

Biología y cultivo de paralarvas de Octópodos

Biology and culture of octopod paralarvae



.Imagen tomada de investigarte.es

Liam Barreto Pérez

Máster de Biología Marina: Biodiversidad y
Conservación

Septiembre de 2022

El **Dr. José Antonio Pérez Pérez**, Profesor Ayudante Doctor de la Universidad de La Laguna y el **Dr. Eduardo Almansa Berro** Científico Titular de OPIS en CNIEO-CSIC, como Tutor Académico y Tutor Externo, respectivamente,

DECLARAN:

Que la memoria presentada por **D. Liam Barreto Pérez** titulada “**Biología y cultivo de paralarvas de Octópodos**”, ha sido realizada bajo su dirección y consideran que reúne todas las condiciones de calidad y rigor científico requeridas para optar a su presentación como Trabajo de Fin de Máster, en el Máster Oficial de Postgrado de Biología Marina: Biodiversidad y Conservación de la Universidad de La Laguna, curso académico 2021-2022.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firman el presente informe favorable en San Cristóbal de La Laguna a **06 de septiembre** de 2022.

PEREZ
PEREZ
JOSE
ANTONIO
-
43354155
Y

Firmado digitalmente por PEREZ JOSE ANTONIO - 43354155Y
Fecha: 2022.09.06 14:23:00 +01'00'

ALMANSA
BERRO
EDUARDO -
26012436B

Firmado digitalmente por ALMANSA BERRO EDUARDO - 26012436B
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-26012436B, givenName=EDUARDO, sn=ALMANSA BERRO, cn=ALMANSA BERRO EDUARDO - 26012436B
Fecha: 2022.09.06 14:14:31 +01'00'

Fdo. **Dr. José Antonio Pérez Pérez**

Fdo. **Dr. Eduardo Almansa Berro**

INDICE

1.	Introducción	2
2.	Objetivo	4
3.	Metodología	4
4.	Resultados	4
	4.1. Taxonomía y distribución.....	4
	4.2. Biología	7
	4.2.1. <i>Octopus vulgaris</i> (Cuvier, 1797).....	7
	4.2.2. <i>Octopus sinensis</i> (d'Orbigny, 1834).....	8
	4.3. Reproducción y desarrollo embrionario	8
	4.4. Paralarvas	11
	4.4.1. Biología	11
	4.4.2. Parámetros físico-químicos del medio	14
	4.4.3. Alimentación	16
	4.4.4. Nutrición.....	19
	4.4.5. Microbioma	24
	4.4.6. Metabolismo.....	27
	4.5. Asentamiento.....	30
	4.6. Últimos avances en el protocolo de cultivo de paralarvas.....	31
5.	Conclusiones	34
	Agradecimientos	35
6.	Bibliografía	36

Resumen

Los cefalópodos son un grupo de gran importancia a nivel ecológico, pero también lo son a nivel socio-económico ya que una parte de la industria pesquera se dedica a su captura y comercialización. Dentro de este grupo, destaca entre los octópodos el pulpo común (*Octopus vulgaris*), especie de gran interés y que ha recibido mucho esfuerzo investigador para conseguir completar su ciclo biológico en cautividad para una producción industrial. Muchos son los problemas que se han presentado a lo largo de los años para alcanzar este fin. En este trabajo, se contemplan diversos aspectos de su biología y del cultivo de sus paralarvas con el fin de poder extraer ideas relevantes de cara a mejorar su sistema de producción en un futuro próximo, y comprender mejor su biología. Los principales problemas de su cultivo son la alimentación, ya que las dietas a día de hoy no son lo suficientemente eficientes para que estos organismos completen el ciclo, así como perfeccionar el protocolo de cultivo. Aunque todavía quedan muchas incógnitas por resolver, se empiezan a vislumbrar posibles soluciones que resuelvan cuellos de botella como la alta tasa de mortalidad y el poder cerrar el ciclo de vida en cautividad definitivamente.

Palabras clave: Octópodos, pulpo común, cultivo, dieta.

Abstract

Cephalopods are a group of great importance at an ecological level, but also at a socio-economic level, since a part of the fishing industry is dedicated to their capture and commercialization. Within this group, two species stand out among the octopods, the common octopus (*Octopus vulgaris*), a species of great interest that has received a great research effort to complete its biological cycle in captivity for industrial production. Many problems have arisen over the years to achieve this goal. In this work we will look at various aspects of their biology and of their paralarvae culture in order to draw out relevant ideas for the future improvement of the production system, and a better understanding of their biology. The main problems for their culture are feeding, as at present diets are not efficient enough to allow these organisms to complete their life cycle, as well as improving the culture protocol. Although there are still many unknowns to be solved, possible solutions to bottlenecks such as the high mortality rate and closing their life cycle under captivity definitively, are beginning to be glimpsed.

Keywords: Octopods, common octopus, culture, diet.

1. Introducción

Los cefalópodos son un grupo de organismos que actualmente presentan unas 800 especies, dentro de los cuales los dos géneros más abundantes son *Sepia spp.* y *Octopus spp.* (Boyle & Rodhouse, 2007; Villanueva et al., 2017) con una tasa de crecimiento alta y un periodo de vida corto, con sexos separados y desarrollo directo, y un único periodo de madurez sexual con múltiples desoves. A nivel ecológico, los cefalópodos se consideran especies clave, ya que son depredadores activos y una importante presa para organismos en diferentes niveles de la cadena alimentaria (Boletzky & Villanueva, 2014; Villanueva et al., 2017).

Los cefalópodos son muy importantes para el consumo humano directo, pero también son muy demandados por sus subproductos como son el aceite marino, tinta, quitina y quitosano, colágeno, calcio e hidroxiapatita, péptidos funcionales, peptonas, enzimas, proteinasas de las glándulas digestivas, las cuales se pueden utilizar para preparar salsas de pescado, y abonos orgánicos, entre otros. Son un modelo de estudio importante para diversas disciplinas científicas como son la investigación médica y bioquímica, la fisiología, la neurociencia, la bioquímica nutricional, en el campo del envejecimiento, la biología molecular y la inmunología (Oestmann et al., 1997), debido a que presentan algunas características inusuales como la de su sistema nervioso y órganos de los sentidos (Lee, 1994). Todas estas características han generado una industria pesquera considerable en torno a los cefalópodos y que además, en los últimos 50 años, hayan sido un gran objetivo dentro de la acuicultura, avanzando a distintos ritmos dependiendo de las características y necesidades de cada especie dentro de este grupo (Boletzky & Villanueva, 2014).

Datos recientes sobre las capturas mundiales de pulpo han mostrado que llegan a superar las 301.000 toneladas anuales, siendo el pulpo común, *Octopus vulgaris*, la especie con mayores capturas y valor comercial. En 2018, las capturas de *O. vulgaris* en el Mediterráneo, el noreste y el centro del Atlántico oriental alcanzaron las 81.826 t (FAO, 2020). La especie tiene una importancia significativa en el sur de Europa, donde prácticamente es objeto principal de la pesca costera tradicional a pequeña escala (Pierce et al., 2010; Sobrino et al., 2011; Pita et al., 2016). El creciente interés por este recurso junto con el agotamiento de las poblaciones históricas de peces, así como el aumento del precio en el sur de Europa están haciendo que estas pesquerías costeras de pequeña escala no sean sostenibles a largo plazo (Pita et al., 2021).

La presión pesquera y el alto precio durante los últimos años han motivado un gran interés en la acuicultura de esta especie. Su rápido crecimiento y su alto índice de conversión alimentaria

lo convierten en un increíble candidato para la diversificación de la acuicultura (Iglesias et al., 2014). Este interés creciente ha dado lugar a exhaustivas investigaciones que han aportado nuevos datos relevantes que muestran que la alimentación y la nutrición son factores clave para conocer sus requerimientos vitales tanto en el medio salvaje como en condiciones de cultivo (Navarro et al., 2014; Roura et al., 2017). Dada la importancia comercial de esta especie, se han acumulado considerables conocimientos en torno a su fisiología y comportamiento, obtenidos básicamente a partir de ejemplares subadultos y adultos, existiendo una información mucho más escasa relativa a sus paralarvas, individuos a lo largo del proceso de asentamiento, y juveniles tanto en el medio natural como en condiciones de cultivo (Wells, 1978). Todos estos estudios han identificado una carencia de información relativa a esta especie en dichos estadios, especialmente en la nutrición, que es un cuello de botella que impide tanto su producción acuícola, como la comprensión de su papel depredador en los sistemas marinos.

En la actualidad, la tecnología disponible para el cultivo de todo el ciclo de vida de *O. vulgaris* es escasa y solo se ha logrado en laboratorio, principalmente porque no existe una dieta comercial disponible que presente unos requerimientos nutricionales aptos para el desarrollo completo de esta especie. En consecuencia, el sistema de producción se basa en la captura de subadultos jóvenes que se mantienen en cautividad y se engordan hasta alcanzar el peso comercial. Teniendo en cuenta que esto significa un efecto directo sobre las poblaciones salvajes, se descarta como opción, por lo que es necesario llevar a cabo más investigaciones al respecto. El adecuado desarrollo del cultivo del pulpo para que sea una actividad económica sostenible requiere resolver dos cuestiones limitantes: la producción masiva de subadultos y una dieta comercial adecuada (Iglesias et al., 2014).

Otro aspecto a tener en cuenta es que el pulpo común está incluido en la directiva de la Unión Europea sobre bienestar animal para la protección de los animales utilizados con fines científicos desde 2010 (Directiva 2010/63/UE). Años después, Fiorito et al. (2015) propusieron unas “Pautas para el cuidado y bienestar de los cefalópodos” que se siguen en la actualidad cuando se trabaja con estos organismos, procurando la mayor calidad de vida posible durante las experiencias.

2. Objetivo

Analizar la información existente en relación a la biología y requerimientos de los primeros estadios de vida del pulpo común (*Octopus vulgaris*) con el fin de identificar posibles mejoras de los protocolos de cultivo y obtener datos de utilidad para gestionar y conocer las poblaciones salvajes.

3. Metodología

Principalmente se ha utilizado el Google Académico para realizar una búsqueda preliminar de los artículos relacionados con el trabajo. Posteriormente, se ha acudido a la bibliografía citada en los mismos para consultar otros trabajos de interés. También se ha utilizado para las consultas, bases de datos de NCBI, Elsevier, Springer y páginas similares para la búsqueda.

4. Resultados

4.1. Taxonomía y distribución

Históricamente se consideraba que *O. vulgaris* presentaba una distribución cosmopolita, ya que como las distintas poblaciones conocidas de esta especie que se distribuían en el mar Mediterráneo y en las aguas tropicales poco profundas que rodean Australasia, Europa, África, Asia y América (Robson, 1929) (Fig. 1) no presentaban diferencias morfológicas significativas, se pensaba que eran la misma especie.

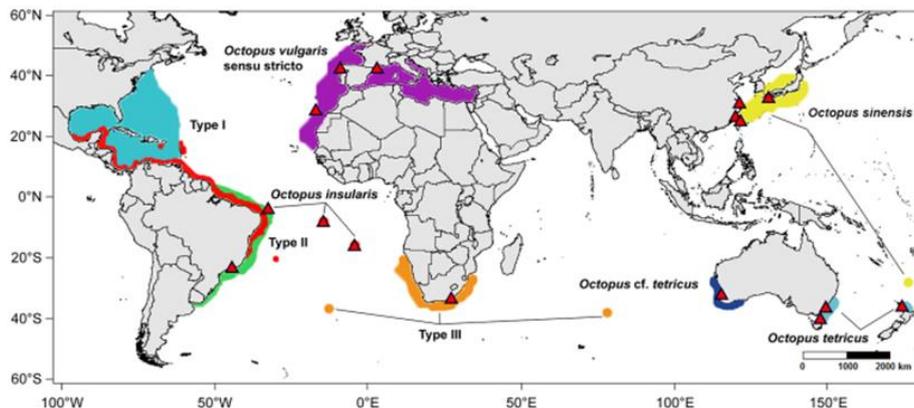


Figura 1. Distribución de las poblaciones de pulpo común (*Octopus vulgaris*). Tomado de Amor et al. (2019).

Sin embargo, estudios recientes basados en el ADNmt han aportado algunas pruebas de la existencia de diferencias entre las poblaciones de *O. vulgaris* (Söller et al., 2000; Amor et al., 2017). Estas pruebas de ADNmt sugieren que *O. vulgaris* comprende un conjunto de especies

muy similares a *O. vulgaris* morfológicamente pero genéticamente distintas, al cual se le ha denominado "complejo de especies de *Octopus vulgaris*". La estimación del árbol de especies dentro del grupo de *O. vulgaris* tuvo valores muy altos de BootStrap que apoyan esta división en diferentes especies (BS = >99,1) como se puede ver en la Figura 2, con *O. vulgaris s. s.*, *O. vulgaris* Tipo II, *O. vulgaris* Tipo III, *O. cf. tetricus*, *O. tetricus* y *O. sinensis* como especies distintas (Amor et al., 2019).

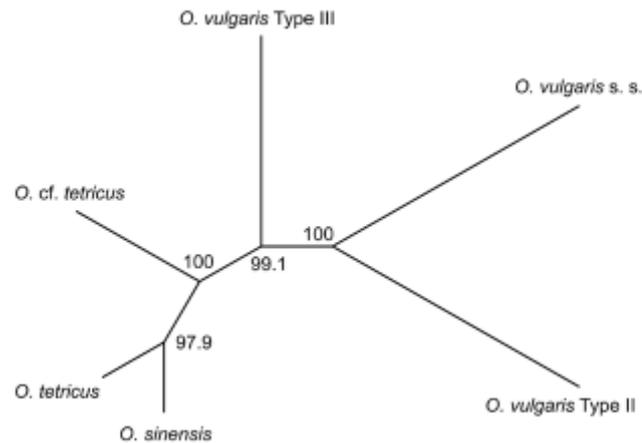


Figura 2. Estimación del árbol de especies que soporta seis especies dentro del grupo de *Octopus vulgaris*. Tomado de Amor et al. (2019).

Amor et al. (2019) tuvieron pruebas de que este taxón está compuesto por especies distintas y que, por lo tanto, se requiere comparaciones morfológicas de las diferentes poblaciones de *O. vulgaris* para fines taxonómicos. Según los análisis de ADNmt, *O. sinensis* tiene la distribución más amplia de todos los taxones del complejo *O. vulgaris*. Los análisis de Amor et al. (2014) mostraron que *O. sinensis* (tratado como la población de *O. vulgaris* asiática) era el taxón hermano de un clado compuesto por *O. tetricus* y *O. cf. tetricus*. Este estudio sugiere en cambio, que *O. cf. tetricus* es el taxón hermano de un clado que contiene *O. tetricus* y *O. sinensis*, ya que esta topología era significativamente más probable. Ya que sus resultados se basan en pruebas del genoma completo, consideran que este hallazgo es una representación más fiable de las verdaderas relaciones entre estos taxones. Además, apoyan que otros tres taxones pertenecientes al grupo *O. vulgaris* (*O. tetricus*, *O. cf. tetricus* y *O. sinensis*) y *O. insularis* son especies válidas (Fig. 3).

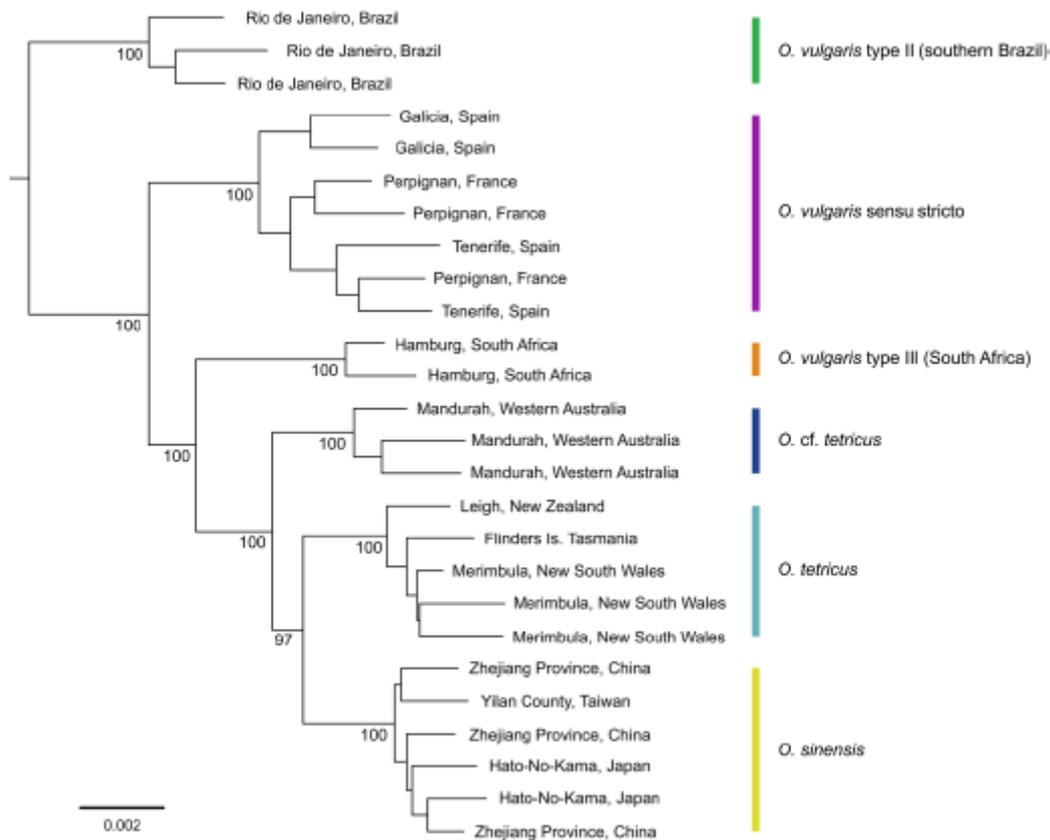


Figura 3. Filogenia de máxima verosimilitud que representa las relaciones entre los miembros del grupo de especies *Octopus vulgaris*. Tomado de Amor et al. (2019).

Sasaki (1929) observó que la población de *O. vulgaris* de las aguas de Japón no era igual que las descritas en el Mediterráneo y en el Atlántico, es más, a día de hoy, su estudio está apoyado por distintos estudios a nivel molecular (e.g., Warnke et al., 2004; Kaneko et al., 2011). En este sentido, los trabajos de Guerra et al. (2010) y de Amor et al. (2014), ya concluyen que esta especie cosmopolita es de hecho un complejo de especies, como ya mencionamos anteriormente.

Otra especie que ha cobrado importancia en los últimos años es *Octopus americanus*, el cual antes era conocido como *O. vulgaris* tipo II por otros autores (Sales et al., 2013; Lima et al., 2017; González-Gómez et al., 2018; Amor et al., 2017, 2019; de Luna Sales et al., 2019) y que en el trabajo de Avendaño et al. (2020) ha sido renombrado como *O. americanus* Montfort, 1802. Esta especie presenta una distribución a lo largo del continente americano desde Mar del

Plata, Argentina, Brasil, por el Mar del Caribe, y desde el Golfo de México a las costas de Virginia.

A pesar de esto último, este trabajo se centrará en las especies *O. vulgaris* y *O. sinensis*, debido a que son las especies que en cuanto a términos de cultivo están más avanzadas y son las más interesantes a estudiar.

4.2. Biología

4.2.1. *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797)

Octopus vulgaris es una especie nerítica y meroplanctónica, cuyo ciclo de vida combina una fase paralarval planctónica relativamente larga con una fase bentónica juvenil y adulta sin patrones significativos migratorios (Lourenço, 2014), considerada cosmopolita con límites de distribución desconocidos en mares templados y tropicales. Son bentónicos y se encuentran desde el sublitoral hasta profundidades de 200 m, en una variedad de hábitats como rocas, arrecifes de coral y lechos de algas. El tamaño es muy variable dependiendo del hábitat, con una longitud total máxima de 130 cm y un peso máximo de hasta 10 kg (comúnmente 3 kg). Esta especie tiene una alta fecundidad (100.000-600.000 huevos), produciendo pequeñas crías de unos 2-3 mm de longitud del manto (Mangold, 1983; Roper et al., 1984; Vidal et al., 2010).

Las "paralarvas" de *O. vulgaris* (término definido por Young & Harman, 1988) eclosionan con 1,0-1,5 mm de longitud de manto (LM) (ca. 1,5-2,9 mm de tamaño total). Son planctónicas, nadan activamente y tienen altas tasas metabólicas, requiriendo grandes cantidades de presas vivas de adecuada movilidad y calidad nutricional (Villanueva, 1995; Iglesias et al., 2000; Parra et al., 2000; Navarro & Villanueva, 2000, 2003). Durante la fase planctónica, sufren fuertes cambios morfológicos debido principalmente al rápido crecimiento de los brazos respecto al manto. Como resultado, la forma de calamar de las crías se fusiona progresivamente con la forma de pulpo en el momento del asentamiento.

La estrategia del ciclo vital bentopelágico de *O. vulgaris* explica con toda seguridad su amplia distribución y la existencia de varias especies crípticas asociadas al complejo de especies de *O. vulgaris*, como ya explicamos en el apartado de taxonomía. El área de distribución conocida de *O. vulgaris* es el mar Mediterráneo, el Atlántico oriental (desde el sur de Inglaterra hasta suroeste de África), las Azores, las Islas Canarias, Cabo Verde, Santa Helena, las Islas Tristán da Cunha y la costa sureste de Sudáfrica en el Océano Índico (Warnke et al., 2004; Lourenço, 2014)

4.2.2. *Octopus sinensis* (d'Orbigny, 1834)

El pulpo común de Asia oriental, *Octopus sinensis*, es uno de los conocidos pulpos bentónicos con fase paralarval, distribuido por todo el Océano Pacífico noroccidental templado (Gleadall, 2016). Este pulpo es un importante recurso pesquero que ha sido fuertemente explotado y desde hace tiempo ha atraído la atención como objetivo para la acuicultura, dedicándose esfuerzos intensivos en el desarrollo de tecnologías de cría de paralarvas en esta especie (Itami et al., 1964; Villanueva, 1995; Villanueva et al., 1995; Iglesias et al., 2007; Sauer et al., 2021).

Para ambas especies de pulpo, se dispone de cierta información sobre su asentamiento basada en observaciones de animales criados en laboratorio, del que se hablará con mayor detalle en el apartado 4.5. En cuanto a los hábitos alimentarios, se sabe que las paralarvas del pulpo común se alimentan principalmente de larvas de crustáceos decápodos en el hábitat natural (Roura et al., 2012; Olmos-Pérez et al., 2017), habiéndose confirmado su eficacia mediante ensayos de cría en cautividad (Itami et al., 1964; Villanueva, 1994; Iglesias et al., 2014; Garrido et al., 2017; Roo et al., 2017; Dan et al., 2019).

Sin embargo, son necesarios más datos cuantitativos para entender cuándo y cómo los pulpos cambian su comportamiento en relación con la adopción del hábitat bentónico, como paso para mejorar el conocimiento del proceso de asentamiento. Los resultados del estudio de Dan et al. (2021) ilustran que los cambios de comportamiento de *O. sinensis* no están claramente delimitados y que se requiere un largo periodo de tiempo para completar el proceso de adoptar el modo de vida bentónico, lo que sugiere que el proceso de asentamiento en el hábitat natural implica un complejo de cambios graduales.

4.3. Reproducción y desarrollo embrionario

Los pulpos bentónicos adoptan dos estrategias vitales principales (Boletzky, 1992, 1997). La primera es la producción de relativamente pocos huevos grandes que dan lugar a crías bien desarrolladas que se parecen a los adultos y adoptan rápidamente el hábito bentónico de sus padres. La segunda estrategia es la producción de numerosos huevos pequeños que eclosionan en crías de natación libre, planctónicas y semitransparentes que ocupan nichos ecológicos distintos a los de los adultos. En el caso de nuestras especies de interés es la segunda.

Durante el desarrollo embrionario de las puestas, se ha observado que las hembras de pulpos bentónicos cuidan sus huevos durante todo el periodo de desarrollo, tras el cual estas mueren. Asimismo, limpian continuamente la superficie de los huevos con sus ventosas, ventilan los huevos con descargas de agua mediante el embudo y protegen los huevos de posibles

depredadores. Los huevos de estos pulpos poseen un pedúnculo de longitud variable (el "pedúnculo del corion") que se utiliza para fijar el huevo directamente a un sustrato duro o puede unirse para formar cordones o festones de huevos (Huffard & Hochberg, 2005).

Los huevos que ponen los pulpos con crías planctónicas suelen ser miles, pero pueden llegar a 500.000 en *Octopus vulgaris* (Mangold, 1983). Dentro del rango específico de cada especie, la temperatura es el principal factor que regula el desarrollo de los embriones de los pulpos, que es más rápido a temperaturas más altas, 22-25 días en *O. vulgaris* a 25°C (Mangold, 1983). Repolho et al. (2014) observaron que el calentamiento de las aguas acortaba el tiempo de desarrollo embrionario, a una temperatura de 18°C se desarrollaban en 38 días, mientras que al subir a una temperatura de 21°C este bajaba a 25 días. Asimismo, observaron un decrecimiento de la supervivencia (~30%), notando que también el tamaño de la puesta era inversamente proporcional a la temperatura y que el porcentaje de paralarvas prematuras de pequeño tamaño incrementaba drásticamente, del 0% a 18°C al 17,8% a los 21°C. Por ello, sabiendo este dato, el control de la temperatura en los tanques de cultivo es muy importante para la viabilidad de las puestas.

En el trabajo de Márquez et al. (2021) se habla de que varios autores han informado sobre una respuesta diferencial de fases embrionarias a la temperatura. En los calamares, los embriones en la fase de preorganogénesis son más resistentes a las bajas temperaturas que los de la fase de organogénesis (O'Dor et al., 1982; Sen, 2005; Vijai et al., 2015). Esta diferencia no se observó tan acusadamente en las experiencias que realizaron con *O. vulgaris*, aunque si se observó con la pota (*Ommastrephes bartramii*) (Fig. 4), para la que se observó una diferencia significativa entre la preorganogénesis (~11°C) y la organogénesis (~13°C). Este hecho puede definirse como una tasa de desarrollo no isomórfica en el sentido de Jarošík et al. (2002, 2004), e implica que la duración relativa de las fases embrionarias cambia con la temperatura. El fenómeno sugiere la posibilidad de aplicar protocolos de incubación diferentes a la temperatura constante, que pueden denominarse protocolos anisotérmicos.

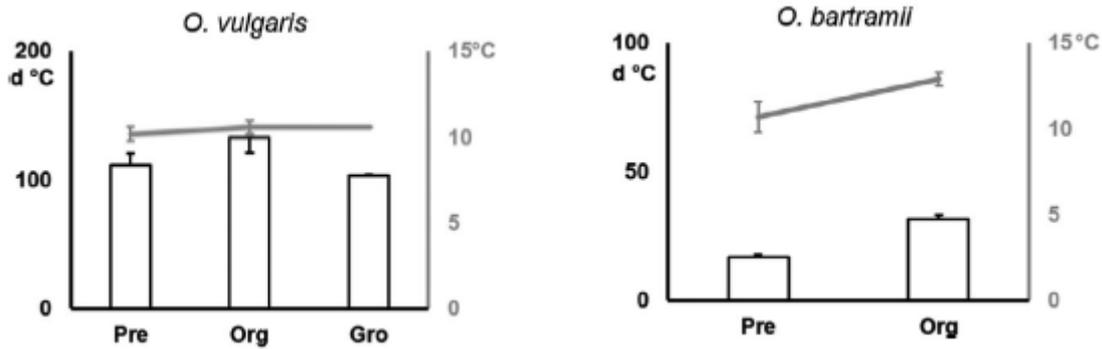


Figura 4. Parámetros del modelo lineal de desarrollo aplicados a cada fase embrionaria de en diferentes especies de cefalópodos. Tomado de Márquez et al. (2021).

La literatura sobre la variación temporal en uno y otro caso es escasa (García et al., 2016), pero podría ser de aplicación a los protocolos artificiales de incubación.

Por tanto, el efecto de las fluctuaciones de temperatura es otro punto que sería interesante seguir investigando en el futuro. El concepto clásico de tiempo térmico permite las fluctuaciones de temperatura a la hora de calcular la acumulación de °C diurnos, y sería interesante producir pruebas experimentales que apoyen esta suposición también en el caso de los cefalópodos. Al menos dos artículos, Oosthuizen et al. (2002) y Vijai et al. (2015), trataron esta cuestión, y sus resultados apoyan la posibilidad de calcular el tiempo térmico en presencia de fluctuaciones de temperatura. Sería especialmente interesante realizar experimentos de fluctuación en los que se compruebe si la transferencia de la temperatura permisiva superior a la permisiva inferior y viceversa, ejerce algún efecto sobre la acumulación de tiempo térmico en la eclosión. Estas transferencias de temperatura deben probarse por separado para las diferentes fases embrionarias, es decir, habría que investigar si diferentes fases embrionarias varían en su capacidad para hacer frente a las fluctuaciones de temperatura. Estos experimentos aportan información sobre el periodo de desarrollo embrionario, lo cual puede ser de utilidad para su ecología, para el control de las poblaciones salvajes, así como para su producción comercial.

Tras la eclosión, las paralarvas de pulpo poseen reservas de vitelo disponibles que ayudan al animal durante las primeras horas o días, combinando la alimentación endógena (vitelo) con la exógena (presa) hasta que el vitelo se absorbe por completo (Boletzky, 1975, 1989). Las observaciones realizadas en condiciones experimentales muestran que las paralarvas de *Octopus vulgaris* bien desarrolladas y no prematuras empiezan a alimentarse durante las primeras 24 horas después de la eclosión (Villanueva et al., 2002; Morote et al., 2005; Iglesias

et al., 2006) y que la presencia de un saco vitelino interno no interfiere aparentemente en el funcionamiento de ningún órgano (Boletzky, 1975).

La cantidad de vitelo es proporcional al peso corporal y la absorción de vitelo está relacionada con la temperatura en las paralarvas de calamar (O'dor et al., 1986; Vidal et al., 2002, 2005). La misma relación puede esperarse para las paralarvas de pulpo.

En *O. vulgaris*, la dieta materna antes del desove influye en la composición lipídica de los huevos y las crías, y se ha relacionado con la supervivencia de las paralarvas en condiciones de inanición. Las paralarvas cuyas madres fueron alimentadas con una dieta a base de sardina, presentaron bajas tasas de supervivencia y un bajo contenido en lípidos, especialmente de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina, así como un bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3 y n-6 (Quintana et al., 2005, 2006).

4.4. Paralarvas

4.4.1. Biología

Young & Harman (1988) definieron la paralarva como "primera fase de crecimiento de los cefalópodos posterior a la eclosión, la cual es pelágica en aguas cercanas a la superficie durante el día y tiene un modo de vida claramente diferente al de los individuos coetáneos de mayor edad".

Las paralarvas de las especies de las que se habla en este trabajo suelen tener extremidades poco desarrolladas, pocas ventosas, cromatóforos simples y musculatura transparente, generando un gran contraste con respecto a sus fases adultas (Villanueva & Norman, 2008). Las paralarvas de pulpo pueden considerarse miembros del meroplancton porque estos jóvenes pulpos viven como plancton sólo durante una parte de su ciclo vital. Según su tamaño (en longitud total), la mayoría de los pulpos planctónicos pueden considerarse mesoplancton (0,2-20 mm) (Harris et al., 2000). Algunas especies, como *O. vulgaris*, tienen un periodo de prepresentamiento relativamente corto durante el cual se convierten rápidamente en bentónicas (Villanueva & Norman, 2008).

Con respecto a la luz, se ha observado una fototaxia positiva que parece ser una respuesta común a la luz en las crías de pulpo, así como en algunas etapas paralarvares posteriores. En condiciones de laboratorio, se ha informado de fototaxis positiva en crías de varias especies, encontrándose entre ellas *O. vulgaris* (Vevers, 1961; Villanueva, 1995; Nixon & Mangold, 1998). Sidie & Holloway (1999) descubrieron que el uso de luces en el fondo de los tanques experimentales no impedía el movimiento vertical de las paralarvas de calamar hacia la

superficie en las primeras 6-12 horas después de la eclosión. Esto sugiere que la geotaxis negativa es el factor más fuerte en este comportamiento, siendo posible que se produzcan procesos similares en las paralarvas de pulpo.

Hay que tener en cuenta que todas las observaciones del comportamiento de las paralarvas de pulpo en cautividad están muy limitadas por la eliminación de un atributo crítico del entorno natural de estos animales: una columna de agua realista. Los tanques de cría limitan en gran medida la capacidad de las paralarvas de pulpo para ajustar su profundidad en respuesta a factores experimentales como los cambios en los niveles de luz, las presas, los depredadores y los ciclos mareales o lunares. Sobre esto habla De Wolf et al. (2011) quienes estudiaron la relación entre la supervivencia y el volumen del tanque, encontrando una mayor supervivencia de las paralarvas cuando se probaron volúmenes grandes y una baja densidad de paralarvas. Después de todo, no hay que olvidar que las paralarvas de *O. vulgaris* tienen una estrategia oceánica, viviendo lejos de la plataforma continental y una afinidad por las aguas superficiales durante la noche, debido a su modo de vida planctónico (Villanueva & Norman, 2008; Roura et al., 2016).

Por ejemplo, la variabilidad natural de los niveles de luz puede estar en valores significativamente más bajos que en situaciones experimentales como la luz solar plena en tanques de cría poco profundos. Inmediatamente después del asentamiento, los pulpos muestran una fuerte fototaxis negativa y un comportamiento reclusivo, como se ha observado en condiciones de laboratorio en *O. vulgaris* (Itami et al. 1963; Villanueva, 1995; Villanueva & Norman, 2008).

Fernández-López et al. (2005) probaron la influencia de la intensidad de la luz (1.000, 3.000 y 6.000 lux) en la supervivencia y el crecimiento de paralarvas de *O. vulgaris* criadas en cautividad, obteniendo los mejores resultados con los tratamientos de mayor intensidad de luz durante los periodos de luz diurna. Okumura et al. (2005) sugieren que la tasa de supervivencia de las paralarvas del pulpo común se ve afectada negativamente por un fotoambiente inestable en las paralarvas criadas en cautividad expuestas a intensidades variables de luz natural (debido a la deriva de las nubes y al sol intermitente).

Los experimentos con estas paralarvas demostraron que la luz triplicaba la tasa de consumo de presas en comparación con las condiciones de oscuridad. También se registró un mayor porcentaje de individuos no alimentados en la oscuridad, lo que sugiere la importancia de la luz (y la visión) en el comportamiento depredador (Márquez et al., 2007). Sin embargo, estos

autores demostraron que la luz puede no ser esencial para la captura de presas, ya que se encontró una correlación positiva entre la densidad de presas y las tasas de consumo en condiciones de oscuridad. Además, Garrido et al. (2017) observaron que la luz polarizada no tuvo una influencia significativa en la tasa de depredación de las paralarvas de *O. vulgaris* sobre diferentes tipos de presas. Sin embargo, se observó una ingestión significativamente mayor de Artemia respecto a las especies de copépodos evaluadas en su estudio. El filtro azul favoreció el uso de las condiciones de luz natural en el cultivo de paralarvas, mientras que la luz focalizada redujo la colisión de las paralarvas contra las paredes del tanque. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento o la supervivencia. Son necesarios más estudios para aclarar y comprender mejor los posibles efectos de las condiciones de luz (intensidad, polarización, etc.) en la cría de paralarvas de *O. vulgaris*.

En el trabajo de Tur et al. (2018) llevaron a cabo experiencias con diferentes intensidades de luz, colores y ángulos, cuyos resultados apuntaron a un impacto negativo significativo de las bajas intensidades de luz (13 y 87 lx) en el crecimiento de las paralarvas. El segundo ensayo que llevaron a cabo se diseñó para contrastar los colores de la luz (azul frente a blanco), diferentes niveles de intensidad (300 lx (478 W/m²) frente a 600 lx (1077 W/m²)) y la cobertura parcial de los tanques mediante una malla de sombra, denominada “zona de sombra” (semicubierta frente a no cubierta). En los tanques semicubiertos, la supervivencia mejoró significativamente, siendo los mejores resultados los de los tanques semicubiertos con luz azul y 600 lx, pero no se observaron diferencias en el peso seco de los ejemplares. El tercer experimento probó un factor denominado “posición de la fuente de luz” con dos niveles: “Control”, cuando el ángulo de incidencia de la luz era de 0° con respecto a la dirección normal (es decir, perpendicular a la superficie del agua), y “Oblicua”, cuando el ángulo de incidencia de la luz era de 60° con respecto a la dirección normal. En este experimento, la supervivencia mejoró significativamente bajo luz oblicua, pero nuevamente, no se detectaron diferencias en el peso seco. El último experimento fue un diseño unifactorial que combinaba “posición de la fuente de luz” y “cobertura parcial del tanque” con tres condiciones experimentales:

- i) Luz de control con tanques descubiertos.
- ii) Luz oblicua con tanques descubiertos.
- iii) Luz de control con tanques semicubiertos.

La luz oblicua con tanques descubiertos se asoció con una mayor tasa de supervivencia, pero sin significación estadística, probablemente debido a la variabilidad de los datos. Se puede

concluir que la intensidad de la luz tiende a afectar al peso seco de las paralarvas, mientras que la existencia de una zona de sombra o la luz oblicua están más relacionadas con una mejora de las tasas de supervivencia. El color del tanque también parece tener efecto, obteniendo mejores tasas de supervivencia en tanques negros que en los blancos (Estefanell et al., 2015).

4.4.2. Parámetros físico-químicos del medio

La calidad del agua es de vital importancia para el mantenimiento de cefalópodos en laboratorios, instalaciones de acuicultura y acuarios públicos, por lo que un control cuidadoso es esencial para el éxito del cultivo, especialmente durante las primeras etapas de desarrollo (Boletzky & Hanlon, 1983).

❖ *Nitrito y amoníaco*

Los niveles de estos parámetros deben controlarse en función de la renovación del agua, al menos una vez a la semana. Feyjoo et al. (2011) determinaron la toxicidad aguda del amoníaco y el nitrito en paralarvas de *O. vulgaris* recién eclosionadas. El valor de la concentración letal 50 (CL50) tras 24 h de exposición fue de 10,7 ppm para el amoníaco y de 19,9 ppm para el nitrito. Esto sugiere que las paralarvas son bastante resistentes al amoníaco libre, pero mucho menos resistentes al nitrito. A concentraciones muy inferiores a los valores LC50, se observan efectos negativos tanto en la ingesta de presas como en la actividad de los cromatóforos (Feyjoo et al. 2011; Iglesias et al., 2014).

❖ *Temperatura*

Los cefalópodos son organismos poiquilotérmicos, por lo que su metabolismo se acelera a medida que aumenta la temperatura. Este es el parámetro del agua que más influye en la alteración del ciclo vital de los cefalópodos en cautividad (Forsythe et al., 2001) porque influye directamente en el desarrollo de los huevos, la tasa de absorción de la yema, la tasa de crecimiento, la tasa de alimentación y la duración de la vida (Boletzky & Mangold, 1973; Domingues et al., 2001, 2002; Forsythe et al., 2002; Vidal et al., 2002; Grigoriou & Richardson, 2004, 2009). Tras la eclosión, el principal factor abiótico que influye en el crecimiento del pulpo planctónico parece ser la temperatura, como se ha observado en otras paralarvas de cefalópodos (Forsythe, 1993). Si el objetivo es maximizar la vida útil de una determinada especie para su exhibición pública o para experimentos de laboratorio, una temperatura del agua más fría promoverá la longevidad (Forsythe et al., 2001).

Una regla básica es que la supervivencia se optimiza si la temperatura (así como otros parámetros de cultivo) se acerca a la del entorno natural en el lugar de captura (Boyle et al.,

1991). Para las poblaciones de Europa, la temperatura recomendada está entre 10 y 20 °C (Vaz-Pires et al., 2004). El crecimiento aumenta a temperaturas más altas dentro de este rango, pero la muerte se produce por encima de los 23 °C (García-García & Aguado Giménez, 2002; García et al., 2009).

Por último, Nande et al. (2018) observaron que los embriones a 14 °C y 18 °C no presentaban diferencias en dos procesos críticos, la síntesis del sistema nervioso (medida a través de la síntesis del ojo) y la organogénesis (medida a través de la longitud del manto). El hecho de que no hubiera diferencias entre las crías desarrolladas a partir de embriones a ambas temperaturas experimentales demuestra que los embriones de *O. vulgaris* pueden verse favorecidos si el desove se produce a temperaturas relativamente bajas.

❖ *Salinidad*

Los cefalópodos son estenohalinos y las salinidades fuera del rango de 27-37 psu pueden ser fatales, por lo que es un factor limitante en la distribución de la mayoría de las especies (Vaz-Pires et al., 2004). En cultivo, las investigaciones indican un rango de salinidad de trabajo de 27-35 psu para *O. maya*, *O. vulgaris*, *S. officinalis* y *S. lessoniana* (Boletzky, 1983; Boletzky & Hanlon, 1983; Nabhitabhata et al., 2005; Farías et al., 2009). Se recomienda mantener la salinidad por encima de 30 psu (Chapela et al., 2006; Berger, 2010), junto con la adición lenta de agua desionizada (DI) o de ósmosis inversa (RO) si la salinidad supera los 35 psu (Walsh et al., 2002).

❖ *pH*

Al igual que muchos animales, los cefalópodos son sensibles al pH, debido al impacto en el rendimiento aeróbico (Pörtner & Zielinski, 1998), y deben mantenerse dentro del rango del agua de mar abierto, entre 7,8 y 8,2 (Boletzky & Hanlon, 1983; Boyle, 1991).

Los huevos y las paralarvas son extremadamente sensibles a los cambios de pH. La adición de bicarbonato sódico puede utilizarse para ajustar las condiciones de pH bajo (Boletzky & Hanlon, 1983), pero debe hacerse muy lentamente, ya que los cambios rápidos de pH pueden ser perjudiciales para la salud de los animales. El pH elevado puede reducirse añadiendo lentamente agua de mar o agua dulce DI/RO al sistema (mientras se controla cuidadosamente la salinidad) o aumentando la aireación del tanque (Moe, 2009). Sin embargo, la mejor solución para condiciones de pH bajo es reemplazar gradualmente el agua cansada con agua de mar fresca.

❖ *Oxígeno disuelto*

El oxígeno es el más importante de todos los gases disueltos para la calidad del agua porque es esencial para la respiración, oxidando los nutrientes que liberan la energía necesaria para la locomoción, la reproducción, la alimentación y otras actividades vitales (Cerezo-Valverde & García-García, 2005).

Los animales más pequeños tienen un consumo de oxígeno específico de la masa relativamente más alto que los animales más grandes, y tanto la alimentación como el movimiento conducen a grandes aumentos en el consumo de oxígeno (Wells et al., 1983; Cerezo-Valverde & García-García, 2004; Melzner et al., 2007; Grigoriou & Richardson, 2009).

La sobresaturación de gas puede explicar la amplia mortalidad que a veces se produce durante las primeras etapas de la vida en la producción intensiva de especies marinas (Gunnarsli et al., 2008). Pueden formarse burbujas de aire en diferentes partes de las paralarvas de *O. vulgaris*, pero lo más usual es que ocurra en la cavidad del manto. Este fenómeno puede estar relacionado con la circulación del agua, la temperatura y los parámetros químicos, pudiendo aparecer por el proceso mecánico de calentamiento del agua, los largos recorridos de las tuberías, la cavitación de las bombas, etc. Para evitar la sobresaturación del agua (principalmente de gas nitrógeno), se recomienda un método de goteo del agua sobre una gran superficie, como en un aireador de columna empacada (Hargreaves & Tucker, 1999).

Estos cambios en los parámetros físico-químicos en los organismos en etapas tempranas pueden afectar a su metabolismo y salud (Díaz-Freije et al., 2014), conduciendo a cambios importantes como el metabolismo y la epigenética de los pulpos (García-Fernández et al., 2017; Morales et al., 2017).

4.4.3. Alimentación

Como se ha visto anteriormente, se han identificado múltiples factores que influyen en el crecimiento de los cefalópodos (Forsythe & Van Heukelem, 1987; Koueta et al., 2002; Koueta & Boucaud-Camou, 2003), pero el factor determinante en los criados en acuicultura parece ser la calidad y la eficiencia de la nutrición y de la alimentación.

Passarella & Hopkins (1991) observaron que las paralarvas de pulpo comparten con las paralarvas de calamar, la preferencia por crustáceos como presas. La mayoría de las crías de laboratorio exitosas o de larga duración, ha sobrevivido gracias a que se les ha administrado zoeas de crustáceos decápodos como presa principal (Itami et al., 1964; Forsythe & Toll, 1991;

Villanueva, 1994; Villanueva, 1995; Shiraki, 1997; Iglesias et al., 2004; Carrasco et al., 2006). También se ha observado que las trayectorias de natación de las paralarvas de *O. vulgaris* en condiciones de laboratorio se ven afectadas por la presencia de presas, tendiendo a aumentar su tasa de giro y a reducir la velocidad de natación en su presencia (Villanueva et al., 1997).

Las preferencias de tamaño y densidad de presa de los pulpos planctónicos se han determinado sólo en condiciones experimentales. Así, se han recomendado Artemias de 1,1-1,7 mm (Imamura, 1990) o de 1,5-2 mm de longitud (Hamazaki et al. 1991) para las paralarvas de *O. vulgaris* (3 mm de longitud total). Iglesias et al. (2006) también las alimentaron con Artemia pequeña (0,8 mm) y grande (1,4 mm), registrando una preferencia (77%) por la Artemia grande, que representaba casi el 50% de la longitud total del pulpo. Las paralarvas de *O. vulgaris* capturan una serie de zoeas de crustáceos decápodos, como *Liocarcinus depurator*, *Palaemon serrifer*, *Pagurus prideaux* y *Maja brachydactyla* (1,3, 2,5, 3,1 y 3,4 mm de longitud total, respectivamente), que representan entre el 18 y el 45% de la longitud total del pulpo y entre el 2 y el 32% de su peso fresco al nacer. A medida que las paralarvas de esta especie de pulpo crecen en la segunda mitad de su fase planctónica, se requieren presas más grandes.

Garrido et al. (2018) observó en su trabajo de meta-análisis que existía una diferencia significativa entre zoeas de diferentes especies de crustáceos decápodos y Artemia en cuanto al aumento de peso seco de las paralarvas de pulpo que las consumían, siendo mayor el peso en el primer caso. Esto coincide con anteriores estudios realizados con zoeas de crustáceos (Itami et al., 1963; Villanueva, 1995; Moxica et al., 2002; Socorro et al., 2004; Morote et al., 2005; Carrasco et al., 2006; Iglesias et al., 2004, 2007, 2014;) o con Artemia bajo diferentes enriquecimientos (Navarro & Villanueva 2000; Moxica et al. 2006; De Wolf et al., 2011). Del mismo modo, Iglesias et al. (2013) señalaron que el crecimiento obtenido añadiendo zoea puede ser seis veces superior al conseguido con Artemia. Además, las paralarvas alimentadas con zoea alcanzaron el estadio bentónico en algunos casos (Itami et al., 1963; Villanueva, 1995; Iglesias et al., 2004; Carrasco et al., 2006).

A pesar de ello, sugieren que el enriquecimiento de Artemia con lecitina marina tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento paralarval en comparación con otros enriquecimientos de Artemia, lo que podría estar relacionado con el aumento del ácido docosahexanoico (DHA, 22:6n-3) y lípidos polares, dado el papel esencial de estos componentes lipídicos en la fisiología de la paralarva. Consideran también interesante probar varios parámetros como los niveles de cobre, las relaciones de ácidos grasos (principalmente la relación, ácido eicosapentanoico, EPA,

20:5n-3/ácido araquidónico, AA, 20:4n-6), otras vitaminas con funciones antioxidantes, sustancias nitrogenadas no proteicas como la taurina, así como formas alternativas de suministrar DHA y lípidos polares.

Las presas vivas no son un estímulo imprescindible para provocar los ataques de las paralarvas del pulpo. Estudios de laboratorio en los que se utilizó alimento inerte demostraron que los ataques suelen producirse cuando la presa muerta o la partícula de alimento desciende en la columna de agua (Boletzky & Hanlon 1983). Los pellets, las milicápsulas y los copos de pescado se han utilizado como alimento suplementario para las paralarvas de *O. vulgaris* y se capturan cuando se hunden en la columna de agua (Navarro & Villanueva, 2000, 2003; Okumura et al., 2005; Kurihara et al., 2006). Sin embargo, hay que tener en cuenta algunos aspectos, especialmente si se utilizan harinas, ya que éstas deben procesarse a temperaturas inferiores a 60°C para evitar la bajada de las tasas de crecimiento resultantes, y su digestibilidad testada (Hamdan et al., 2014).

Siguiendo en esta línea, Itami et al. (1963) también informaron de la captura de presas muertas en el fondo de los tanques de cría. Las paralarvas de pulpo parecen ser depredadores visuales, pero los sentidos químicos y táctiles también parecen desempeñar un papel importante durante la búsqueda de presas y requieren más investigación (Villanueva & Norman, 2008). Finalmente, existen evidencias de la aceptación de las paralarvas de alimentos sin movimiento, como los huevos de cangrejo, a través de la resuspensión y el burbujeo, lo que podría ayudar a conseguir una dieta con mejores características nutricionales (Hernández, 2017). Otra posibilidad es aprovechar la capacidad de las paralarvas para absorber pequeñas moléculas orgánicas que se encuentran en el agua, como aminoácidos esenciales y nutrientes a través de la piel, como otra vía para satisfacer sus necesidades (Villanueva et al., 2004).

Por todo lo dicho, entre las posibles soluciones actuales planteadas o probadas por diversos científicos, sobre todo para obtener una dieta que evite una mortalidad masiva, se incluye en primer lugar, la cría con éxito de un número reducido de paralarvas hasta el estado juvenil, alimentándolas con zoea de crustáceos en coalimentación con *Artemia* (Villanueva, 1994; Moxica et al., 2002; Carrasco et al., 2003; Iglesias et al., 2004). En este sentido, y para superar el problema de la escasa disponibilidad de zoea y su alto valor económico, Moxica et al. (2002) desarrollaron la opción de una dieta a base de *Artemia*, fitoplancton y zoea de cangrejo, cuya ventaja es la necesidad de poca cantidad de zoea, alcanzado las paralarvas una tasa de supervivencia del 0,2% a los dos meses de vida con una buena tasa de crecimiento. Otra opción

de dieta es el uso de copépodos del género *Centropages sp.* y *Temora sp.*, con los que Nande et al. (2017) obtuvieron resultados similares a los de las zoea de crustáceos, y con tasas de crecimiento más altas en comparación a cuando se alimentan únicamente con *Artemia*.

4.4.4. Nutrición

Es bien sabido que los cefalópodos tienen altos requerimientos de proteínas y relativamente bajos requerimientos de lípidos de alta calidad (Miliou et al., 2005; Rosas et al., 2013), y se ha observado que la dieta idónea de los cefalópodos debe consistir en más del 60% de proteínas y 4% de lípidos. Los estudios sobre *Sepia officinalis* y *Octopus maya* han demostrado que es posible alimentar a los cefalópodos con proteína nativa (en contraposición a la procesada, por ejemplo, por calentamiento), congelada o fresca (Domingues et al., 2001, 2002, 2004; Petza et al., 2006; García-Garrido et al., 2010; Quintana et al., 2011; Rosas et al., 2008, 2013). García-Garrido et al. (2010, 2011) encontraron que los lípidos son nutrientes importantes para los cefalópodos, principalmente como fuente de energía. Entre ellos, los PUFAs y en particular el EPA fueron identificados como la principal fuente de energía del pulpo en ayunas, lo que sugiere que deben ser incluidos cuando se diseñe una dieta artificial.

Navarro et al. (2014) hicieron una recopilación de todos los datos conocidos hasta el momento sobre los requerimientos nutricionales de los cefalópodos, en el cual también se incluyeron las especies nombradas en este trabajo. A continuación, se hablará de dichos nutrientes y su importancia para la dieta de estos organismos:

❖ *Proteínas*

Las proteínas son el macronutriente más abundante en los cefalópodos (Zlatanov et al., 2006) y, como afirma Lee (1994) se requiere un gran contenido de proteínas y aminoácidos en la dieta de los cefalópodos para mantener el crecimiento y satisfacer las demandas de energía. Según Lee (1994), los cefalópodos absorben, digieren y utilizan eficientemente las proteínas de la dieta, que luego utilizan para la locomoción, soporte estructural, fuente de energía, transporte de oxígeno y osmorregulación. Los cefalópodos muestran altas tasas de síntesis y retención de proteínas, y bajas tasas de degradación de las mismas.

Zlatanov et al. (2006) descubrieron que el glutamato y el aspartato eran los aminoácidos no esenciales (AANE) más abundantes en las paralarvas de *O. vulgaris*, mientras que la lisina, la leucina y la arginina representaban casi la mitad de los aminoácidos esenciales (AEE). Curiosamente, la arginina era el AAE más abundante en las paralarvas, lo que posiblemente indica su uso posterior para la formación de octopina producida en condiciones anaeróbicas

(Fields et al., 1976; Storey & Storey, 1979; Hochachka & Fields, 1982; Hochachka et al., 1983) o en un metabolismo activo para la producción de energía y la biosíntesis de otros aminoácidos. Por otro lado, los cefalópodos podrían utilizar la prolina durante el metabolismo oxidativo, ya sea como fuente de energía o como medio para aumentar el ciclo de Krebs (Hochachka & Fields 1982). Tanto la arginina como la prolina son potencialmente interconvertibles a través del glutamato y la ornitina (Mommsen et al., 1982).

El crecimiento de los cefalópodos consiste principalmente en un aumento de la masa muscular corporal por síntesis y acumulación de proteínas, y los individuos muestran tasas de crecimiento muy elevadas (especialmente en las fases de paralarva y cría), lo que significa que tienen una alta necesidad de aminoácidos en la dieta. Además, estas altas tasas de crecimiento se deben muy probablemente a una ingestión, digestión (Boucher-Rodoni et al., 1987) y asimilación de proteínas muy eficientes (Domingues et al., 2005). Las proteínas deben ser suministradas por una dieta con niveles equilibrados de aminoácidos, a pesar de la capacidad de algunos cefalópodos de realizar una captación integumental de aminoácidos del agua de mar (de Eguileor et al., 2000; Villanueva et al., 2004). Resultados recientes apuntan a la posibilidad de que las sepias no sean capaces de utilizar proteínas desnaturalizadas (Domingues et al., 2009) y a que se favorezca la utilización de aminoácidos a través de las vías del piruvato y de los ácidos tricarbóxicos en detrimento de la vía cetogénica en *O. vulgaris* hambriento (García-Garrido et al., 2012).

La taurina es un aminoácido análogo que no se incorpora a las proteínas, pero bien conocido por sus múltiples funciones que incluyen la inotropía del calcio alto y bajo, modulador de la excitabilidad neuronal, resistencia a la anoxia e hipoxia, síntesis de sales biliares y simulación de la glucólisis y glucogénesis (Huxtable, 1992). La taurina también es abundante durante las fases planctónicas del pulpo común, donde podría desempeñar un papel en la osmorregulación (Villanueva et al., 2004).

❖ *Lípidos*

Se conoce poco sobre las necesidades de lípidos de los cefalópodos, ya que en el manto de los adultos (Boucaud-Camou, 1990; Sykes et al., 2009) y de las crías (Navarro & Villanueva, 2000, 2003) hay niveles muy bajos de lípidos totales (TL). Este hecho, combinado con su escasa capacidad de oxidación lipídica mitocondrial (O'dor et al., 1984; Hochachka, 1994), debería requerir que se alimenten de presas poco lipídicas, ricas en lípidos polares (PL), ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA) y posiblemente colesterol (Navarro & Villanueva,

2000, 2003; Okumura et al., 2005; Seixas et al., 2008). No hay ningún alimento de la cadena alimentaria artificial de la acuicultura que pueda compararse con la composición lipídica del alimento vivo natural, y hay que hacer todos los esfuerzos posibles para intentar aumentar el contenido de PUFA esenciales de cadena larga y PL de las presas vivas. Los resultados más recientes de Seixas et al. (2010) no excluyen completamente la importancia del DHA para el éxito de la cría de paralarvas de *O. vulgaris*, pero parecen apuntar que quizás otros PUFA n-3 serían más vitales. Los resultados de Quintana (2009) han sugerido que el EPA es particularmente importante en los lípidos de las paralarvas, con proporciones 1:1 de EPA:DHA. El DHA y el EPA parecen desempeñar un papel importante en el cerebro y el sistema visual de los cefalópodos. Esto ha sido confirmado por Monroig et al. (2012) demostrando que los PUFAs (20:4n-3, 20:3n-6, 20:5n-3 y 20:4n-6) son esenciales para esta especie, lo que explica en parte por qué crustáceos y algunos moluscos marinos con bajo contenido en lípidos pero con altas proporciones de PUFA han sido utilizados con éxito como alimento (Boucher-Rodoni et al., 1987; Domingues et al., 2010; Uriarte et al., 2011).

❖ *Carbohidratos*

Aunque las proteínas y los aminoácidos son la principal fuente de energía para los cefalópodos, éstos, incluido *O. vulgaris*, son capaces de catabolizar rápidamente los carbohidratos (CH) de la dieta para responder a las demandas de energía en actividades explosivas como la captura de presas y la huida de los depredadores (Morillo-Velarde et al., 2011). Por lo tanto, los CH pueden contribuir significativamente a alimentar el metabolismo de *O. vulgaris* en condiciones de inanición y, en consecuencia, no debe subestimarse su inclusión adecuada en las dietas para el cultivo de pulpos. También hay que tener en cuenta la fuente de CH utilizada en la formulación de la dieta ya que, mientras que la glucosa fue fácilmente digerida por *O. vulgaris* (O'Dor et al. 1984), un estudio reciente ha revelado que otros tipos de azúcar, como el almidón presente en el guisante liofilizado, pueden presentar una digestibilidad extremadamente baja (Morillo-Velarde et al., 2012).

❖ *Carotenoides*

Las paralarvas de *O. vulgaris* parecen ser capaces de depositar parte de la cantaxantina presente en *Artemia* y de metabolizar este carotenoide a astaxantina (Iglesias et al., 2014). Fisher et al. (1956) informaron de la existencia de vitamina A y, en algunas especies, de β -caroteno en los cefalópodos. Teniendo en cuenta la actividad pro-vitamina A y antioxidante de los carotenoides (Liñán-cabello et al., 2002), y la importancia de esta vitamina en la fotorrecepción, el

crecimiento y el desarrollo, sería muy interesante profundizar en el papel de los carotenoides en los estadios tempranos de los cefalópodos como sugieren Villanueva et al. (2009).

❖ *Minerales*

Villanueva & Bustamante (2006) reportaron la composición elemental del ovario maduro, de las crías, de los huevos en diferentes estados de desarrollo, de los individuos juveniles silvestres y también de las paralarvas alimentadas con una variedad de dietas experimentales. En general, se determinó que el S, el Na, el K, el P y el Mg eran los elementos más abundantes en *O. vulgaris*. En comparación con otros cefalópodos, las crías de *O. vulgaris* contenían niveles más altos de Ag, Cu, Mn, Ni y Zn. En esta especie, el contenido de algunos elementos no esenciales, concretamente Ag, Al, Ba, Cd, Hg y Pb, fue menor en las crías y en las paralarvas criadas que en los subadultos y adultos, lo que sugiere una acumulación de dichos elementos durante el desarrollo (Seixas et al., 2005). Una acumulación similar de oligoelementos parece ocurrir en las sepias (Lourenço et al., 2009; Lacoue-Labarthe et al., 2008, 2009, 2010a, 2010b). Se han estudiado más extensamente ciertos elementos con un papel potencialmente fundamental en la fisiología del pulpo y la sepia. Así, se ha postulado que el Cu, un elemento clave en la función respiratoria de la hemocianina (D'Aniello et al., 1986), es necesario para las paralarvas del pulpo, como sugieren los altos niveles encontrados en aquellas alimentadas con la presa natural, zoeas de *Maja brachydactyla* en comparación con los nauplios de *Artemia* (Villanueva & Bustamante, 2006). Además, los pulpos alimentados con dietas basadas en crustáceos contenían mayores niveles de Cu en comparación con los pulpos alimentados con peces, por lo que se hipotetiza que en parte se debe a una mayor tasa de canibalismo en estos últimos (García-García & Cerezo-Valverde, 2006).

El azufre también se considera un elemento esencial para el pulpo común y la sepia que necesita ser aportado en la dieta en altas cantidades para mantener la formación de proteínas musculares (Lee, 1994; Villanueva et al., 2004), la concha vestigial (Napoleão et al., 2005) y las estructuras quitinizadas como los picos (Hunt & Nixon, 1981). Otros elementos como el Sr y el Co parecen ser incorporados por el pulpo común directamente desde el agua de mar y a través de la ingesta de alimentos en la sepia. Se ha demostrado que el Sr es crítico para el desarrollo adecuado del estatolito y, en consecuencia, para la natación normal y la supervivencia de los pulpos recién nacidos, entre otros cefalópodos (Hanlon et al., 1989). Además de su papel potencial como componente integral de la vitamina B12, el Co también ha sido señalado como importante en

el desarrollo del adenocromo, un pigmento que se encuentra en el corazón branquial, y por tanto con un papel potencial en la excreción (Miyazaki et al., 2001).

❖ *Vitaminas*

Los antioxidantes como los tocoferoles se consideran muy importantes para la prevención de la oxidación de los lípidos, en particular el α -tocoferol, ya que se degrada para proteger los PUFA contra la oxidación en las larvas de los peces (Sargent et al., 1997). De hecho, las necesidades de α -tocoferol parecen depender del nivel de PUFA de la dieta (Stéphan et al., 1995; Halver, 2002; Brown et al., 2005). Se determinaron los perfiles de vitamina A y E (α y γ -tocoferoles) de la sepia europea *S. officinalis*, el calamar europeo *Loligo vulgaris* y el pulpo común *O. vulgaris* en crías de laboratorio y juveniles silvestres. El contenido de vitamina A en los estadios tempranos de los cefalópodos no era diferente del observado en otros moluscos marinos y en las larvas de peces. Además, se observó un contenido relativamente alto de vitamina E en las crías y los juveniles. Estos autores postularon que los altos niveles de vitamina E están probablemente asociados con el alto porcentaje de PUFA propensos a la oxidación que son particularmente altos en los cefalópodos paralarvares y juveniles. En términos generales, concluyeron que las presas naturales y artificiales (*Artemia*) de las primeras etapas de los cefalópodos o bien satisfacían sus necesidades vitamínicas directamente o proporcionaban precursores (es decir, carotenoides) que podían transformarse en vitaminas.

La nutrición de las paralarvas ha sido un importante cuello de botella para *O. vulgaris* en acuicultura. En la actualidad, la supervivencia de los juveniles es muy limitada, lo que sugiere que las dietas diseñadas hasta la fecha presentan marcadas deficiencias nutricionales y/o funcionales (Iglesias et al., 2007). Un estudio reciente investigó las presas ingeridas por las paralarvas de *O. vulgaris* en la naturaleza y encontró 20 especies de presas diferentes en el contenido estomacal de las paralarvas, de las cuales 17 eran crustáceos y tres peces (Roura et al., 2012) proporcionando información esencial para entender su nutrición.

Cuando no se cumplen todos los requerimientos nutricionales de las paralarvas, se desarrolla un nuevo problema y posibles causas de mortalidad, el llamado estrés nutricional, que provoca cambios en las defensas antioxidantes y en la peroxidación de lípidos, tal y como encontraron Varó et al. (2013) en paralarvas de *O. vulgaris*, mostrando diferencias en la actividad de la peroxidasa total en función de la dieta. También existe el estrés que puede generar el manejo de los individuos durante la experimentación, produciendo un incremento de la dopamina o la corticosterona (Tur et al., 2017).

4.4.5. Microbioma

En el estudio de Roura et al. (2017) se llevó a cabo el primer análisis del microbioma gastrointestinal de las paralarvas de *O. vulgaris*, caracterizando tanto las complejas comunidades microbianas presentes en las paralarvas salvajes, como el cambio ontogénico en la composición de la comunidad bacteriana en función de la dieta y el desarrollo en cautividad. Las paralarvas criadas en cautividad con *Artemia* mostraron un agotamiento de la diversidad bacteriana, particularmente después del día 5, cuando se perdió casi la mitad de las especies bacterianas presentes en el día 0. Por el contrario, la diversidad bacteriana aumentó en las paralarvas silvestres a medida que se desarrollaban en el océano (Figura 5), probablemente debido a la exposición de nuevas comunidades bacterianas a través de la ingestión de una amplia diversidad de presas (Roura et al., 2012; Olmos-Pérez et al., 2017).

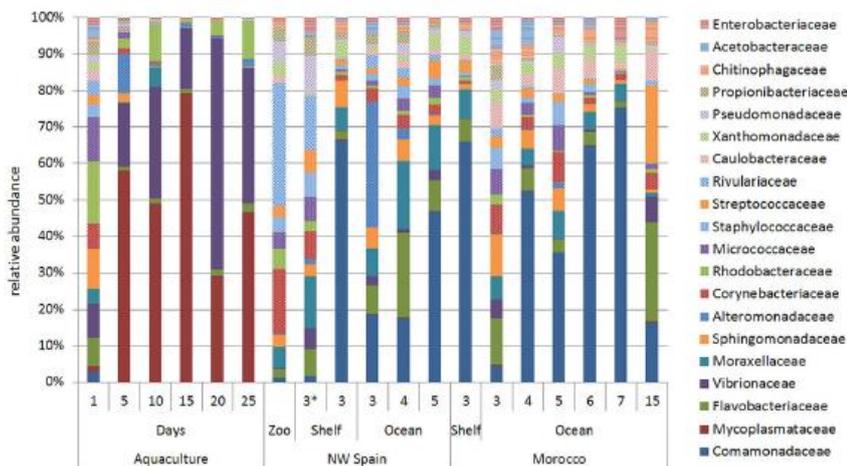


Figura 5. Gráfico de abundancia de familia de bacterias presentes en las larvas de *O. vulgaris*. Tomado de Roura et al. (2017).

Werner et al. (2012) encontraron un alto porcentaje de secuencias no clasificadas que podían representar nuevas especies bacterianas presentes (entre el 20 y el 60% por muestra). En el estudio, el porcentaje de lecturas no clasificadas explicó hasta el 7,2% de la variabilidad total encontrada en las comunidades microbianas. Curiosamente, estas Unidades Taxonómicas Operativas (OTU) no clasificadas fueron significativamente más abundantes en las paralarvas silvestres que en las cautivas, lo que indica un alto grado de novedad en las especies microbianas presentes en el tracto digestivo de las paralarvas silvestres incorporadas a través de la dieta.

Las bacterias autóctonas son las que pueden colonizar la superficie epitelial del intestino del hospedador (microvellosidades), mientras que las alóctonas son transitorias, se asocian al alimento o al agua y no pueden colonizar salvo en condiciones anormales. Varios estudios han demostrado que la microbiota endógena es un componente importante de la barrera de la mucosa, que representa la primera línea de defensa contra los patógenos (Gómez & Balcázar, 2008). El diverso núcleo bacteriano autóctono detectado en paralarvas de *O. vulgaris* recién eclosionadas y en las silvestres se modificó rápidamente y fue sustituido por dos familias bacterianas oportunistas, Vibrionaceae seguida de Mycoplasmataceae (Fig. 5). Esta misma situación de bacterias oportunistas se detectó también en las larvas de bacalao criadas en cautividad (McIntosh et al., 2008).

Aunque algunas especies de *Vibrio* son beneficiosas para el hospedador (Austin et al., 2005; Fjellheim et al., 2007), este grupo oportunista es responsable de una elevada mortalidad en larvicultura (Brunvold et al., 2007; Zhao et al., 2012). Se ha sugerido que las bacterias del género *Mycoplasma sp.* podrían ser un miembro autóctono de la comunidad bacteriana del pulpo con una función desconocida, ya que también se ha encontrado en el tracto gastrointestinal de especímenes salvajes de langosta (Meziti et al., 2010) y salmón atlántico (Star et al., 2013). Los resultados de Roura et al. (2017) mostraron que este género está presente tanto en las paralarvas silvestres como en las cautivas, pero su abundancia es notablemente diferente. Sin embargo, sugieren que las especies de *Mycoplasma sp.* observadas en las paralarvas de *O. vulgaris* en cautividad son oportunistas y, junto con *Vibrio sp.*, son patógenos candidatos a ser responsables de las altas mortalidades observadas en la larvicultura de esta especie.

Olafsen (2001) sugirió que una epiflora de huevos densa y diversa pero no patógena puede ser una barrera contra la formación de colonias por parte de los patógenos. Una posible explicación es que la diversa microbiota de las crías de pulpo en cautividad podría derivar de las bacterias adheridas a la cápsula del huevo. Esta sugerencia está respaldada por la biodiversidad observada de epiflora cultivable asociada a los huevos sanos de *Octopus mimus* (Iehata et al., 2016). La diversidad bacteriana de los huevos sanos fue mayor que la de los huevos infectados (es decir, los huevos que cambiaron de color de blanquecino a amarillo-marrón, indicativo de infección), que estaban dominados por géneros patógenos como *Pseudoalteromonas sp.*, *Vibrio sp.* y *Tenacibaculum sp.*. En su estudio, la diversidad inicial disminuyó rápidamente cuando las paralarvas de *O. vulgaris* comenzaron a alimentarse exógenamente de *Artemia*, y las bacterias oportunistas colonizaron el tracto gastrointestinal.

Sample	Similarity	Families	Av. ab.	Con%	Cumulative
NW Spain	31.59	Flavobacteriaceae	0.10	16.99	16.99
		Comamonadaceae	0.13	15.49	32.49
		Moraxellaceae	0.08	13.55	46.04
		Sphingomonadaceae	0.03	6.11	52.15
		Corynebacteriaceae	0.03	5.16	57.31
		Staphylococcaceae	0.02	4.04	61.35
		Propionibacteriaceae	0.02	3.96	65.31
		Micrococcaceae	0.02	3.81	69.13
		Rivulariaceae	0.03	3.43	72.56
		Streptococcaceae	0.02	3.42	75.98
Morocco	42.49	Comamonadaceae	0.26	41.07	41.07
		Moraxellaceae	0.04	9.21	50.28
		Flavobacteriaceae	0.05	8.37	58.65
		Sphingomonadaceae	0.03	5.33	63.98
		Caulobacteraceae	0.03	3.91	67.90
		Xanthomonadaceae	0.03	3.85	71.75
		Chitiniphagaceae	0.02	2.90	74.65
		Corynebacteriaceae	0.02	2.89	77.54
		Bradyrhizobiaceae	0.02	2.12	79.65
		Streptococcaceae	0.02	2.08	81.73
Aquaculture	38.12	Mycoplasmataceae	0.31	52.56	52.64
		Vibrionaceae	0.20	29.60	82.15
		Rhodobacteraceae	0.05	5.67	87.83
		Flavobacteriaceae	0.02	2.70	90.53
		Alteromonadaceae	0.02	1.47	92.00
		Corynebacteriaceae	0.01	0.85	92.84
		Sphingomonadaceae	0.01	0.79	93.64
		Moraxellaceae	0.01	0.70	94.33
		Enterobacteriaceae	0.00	0.70	95.03
		Micrococcaceae	0.01	0.67	95.70
Zooplankton	37.72	Corynebacteriaceae	0.11	27.81	27.81
		Moraxellaceae	0.04	10.89	38.70
		Pseudomonadaceae	0.05	10.50	49.20
		Micrococcaceae	0.05	8.47	57.68
		Staphylococcaceae	0.03	7.05	64.73
		Propionibacteriaceae	0.03	6.44	71.17
		Sphingomonadaceae	0.03	6.34	77.51
		Streptococcaceae	0.04	3.89	81.40
		Rivulariaceae	0.14	3.62	85.02
		Microbacteriaceae	0.01	2.69	87.71

Tabla 1. Las 10 familias bacterianas más discriminantes de las diferentes paralarvas de *Octopus vulgaris* analizadas y en sus presas de zooplankton. Tomado de Roura et al. (2017).

acuicultura de *O. vulgaris* y *O. sinensis*. Sus resultados demuestran claramente que la flora intestinal de las paralarvas en cautividad era claramente diferente de la comunidad de flora intestinal “sana” de las paralarvas salvajes (Fig. 5).

Las familias bacterianas Comamonadaceae, Flavobacteriaceae y Moraxellaceae fueron las familias más discriminadas y enriquecidas en la comunidad central de las paralarvas silvestres de *O. vulgaris*, y podrían ser una fuente potencial de bacterias beneficiosas para probar en cautividad. Este fue el caso del falso halibut japonés silvestre (Kim & Kim, 2013), donde los

Por el contrario, se observó un aumento gradual de la riqueza de especies entre las paralarvas silvestres a medida que migraban desde sus terrenos costeros de eclosión hacia el reino oceánico (Fig. 5). Fue la primera vez que se observó este cambio ontogénico en las paralarvas de *O. vulgaris* y sugirió una relación entre la diversidad de la flora GI y la supervivencia de las paralarvas.

Las larvas marinas están en constante interacción con las bacterias durante su primera alimentación (Olafsen, 2001), y en comparación con las condiciones silvestres, las larvas cultivadas intensivamente experimentan estrés debido a una alimentación inadecuada (Iglesias et al., 2007) y a una mayor densidad de larvas que en su entorno oceánico (Roura et al., 2016). Además, la elevada carga orgánica asociada con las condiciones de cría puede potenciar la proliferación de bacterias patógenas oportunistas (Lauzon et al., 2010), lo que puede ser perjudicial para las paralarvas y parece ser una de las posibles causas del crecimiento altamente impredecible y la reducida supervivencia que limita la

peces silvestres eran una fuente esencial de microbios beneficiosos que conferían resistencia a las bacterias patógenas (Nayak, 2010). La composición bacteriana en *O. vulgaris* salvaje (a nivel de filo) era similar a la de los peces marinos carnívoros/herbívoros (Sullam et al., 2012), con una jerarquía de composición consistente en Proteobacterias > Actinobacterias > Bacteroidetes > Firmicutes. Curiosamente, uno de los principales grupos bacterianos intestinales de las paralarvas salvajes era la familia Flavobacteriaceae (Tabla 1). Aunque inicialmente se propuso que esta familia se encontraba exclusivamente en peces herbívoros (Sullam et al., 2012), esta hipótesis fue rechazada posteriormente por un estudio de pirosecuenciación que encontró este grupo dentro del tracto GI del bacalao salvaje del Atlántico (Star et al., 2013).

Por último, es notable la similitud de la comunidad microbiana encontrada en el zooplancton salvaje y la de las paralarvas que crecen cerca de la costa (Fig. 5). Aunque en este estudio solo se analizaron cuatro especies de zooplancton, las similitudes observadas apoyan una estrecha relación entre las comunidades microbianas presentes en el tracto GI del depredador y el de su presa. Las paralarvas silvestres diversifican continuamente su microflora intestinal básica con una dieta diversa (Roura et al., 2012; Olmos-Pérez et al., 2017), que proporciona una fuente natural de bacterias alóctonas. Esta microbiota diversa probablemente sirve para una variedad de funciones en la nutrición y la salud del huésped al promover el suministro de nutrientes, prevenir la colonización de agentes infecciosos, la homeostasis energética y el mantenimiento de la inmunidad normal de la mucosa (Nayak, 2010).

4.4.6. Metabolismo

En este apartado vamos a denotar los últimos avances obtenidos en el metabolismo lipídico y el metabolismo intermediario de estos animales

En la revisión de Navarro et al. (2014) se sugiere que el 18:3n-3 no está presente en los tejidos paralarvales del pulpo (Navarro & Villanueva 2000, 2003; Miliou et al., 2006) aunque este ácido graso (AG) se incluye masivamente en su alimentación con *Artemia*. Además, el 18:3n-3 puede competir con el 24:5n-3 por la desaturasa $\Delta 6$ en la ruta metabólica que conduce a la producción del AG fisiológicamente importante, DHA. Por lo tanto, es posible que una dieta rica en 18:3n-3 pueda estar afectando a la adecuada producción de AG esenciales n-3 de las paralarvas. Una hipótesis opuesta es que las vías de desaturación-elongación de C18 de 18:3n-3 y 18:2n-6 pueden estar activas en *O. vulgaris* para producir AG n-3 y n-6 fisiológicamente esenciales.

La caracterización funcional de esta enzima demostró que la desaturasa de ácidos grasos (Fad, *del inglés Fatty Acyl Desaturase*) del pulpo presentaba una actividad de desaturación $\Delta 5$ hacia sustratos de ácidos grasos saturados y poliinsaturados. Así, convertía eficientemente 16:0 y 18:0 en 16:1n-11 y 18:1n-13, respectivamente, y los sustratos PUFA desaturados 20:4n-3 y 20:3n-6 en 20:5n-3 (EPA) y 20:4n-6 (ARA), respectivamente. Aunque la $\Delta 5$ Fad permite al pulpo común producir EPA y ARA, la escasa disponibilidad de sus sustratos adecuados 20:4n-3 y 20:3n-6, ya sea en la dieta o por síntesis endógena limitada a partir de C18 PUFA, podría indicar que el EPA y el ARA son realmente esenciales para esta especie.

Resulta interesante que la Fad $\Delta 5$ del pulpo también puede participar en la biosíntesis de los AG no metilados (NMID), PUFA que generalmente no son comunes en los vertebrados pero que se han encontrado previamente en invertebrados marinos, incluidos los moluscos, y que ahora también se ha confirmado que están presentes en tejidos específicos del pulpo común. La clonación molecular y la caracterización funcional de un ADNc que codifica una elongasa de ácidos grasos de cadena muy larga (Elovl, *del inglés Elongases of Very Long-chain Fatty Acids*), una enzima crítica que cataliza la elongación de los AG, incluidos los PUFA, en el pulpo común, sugiere su relación filogenética con Elovl5 y Elovl2, dos elongasas con funciones demostradas en la biosíntesis de PUFA en vertebrados (Monroig et al., 2012). La caracterización funcional de la Elovl del pulpo mostró la capacidad de elongar algunos PUFAs C18 y C20, mientras que los sustratos de PUFAs C22 permanecieron sin modificar. Curiosamente, la Elovl del pulpo elonga sustratos PUFAs n-6 de forma más eficiente que sus sustratos homólogos n-3, sugiriendo que los PUFAs n-6 pueden tener una importancia biológica particular en *O. vulgaris*, como se ha mencionado anteriormente, y subrayando de nuevo la esencialidad de los PUFAs n-3 de cadena larga, y en particular el DHA. Además, la elongasa también desempeña un papel fundamental en la biosíntesis de los AG NMID. Esto ya lo había señalado Monroig et al. (2013), quienes observaron que parecía ser que los cefalópodos poseían una única proteína Elovl5/2 que es basal a las distintas familias de vertebrados Elovl5 y Elovl2, y que funcionalmente, es similar a la Elovl5 de los vertebrados, con capacidad para elongar eficientemente sustratos C18 y C20 PUFA, pero sin actividad en C22 PUFA, como se dijo anteriormente. Señalaban que diferentes investigaciones sobre *O. vulgaris* sugerían que la proteína similar a la Elovl4 de los cefalópodos participa en la biosíntesis muchos de los LC-PUFA de hasta 34 carbonos.

En el trabajo de Garrido et al. (2019) observaron que *O. vulgaris* posee dos genes de ωx desaturasa que codifican enzimas con regiones selectivas de $\Delta 12$ y $\omega 3$ que permiten la

biosíntesis de novo de los ácidos grasos poliinsaturados C18 18:2n-6 (LA, ácido linoleico) y 18:3 ω 3 (ALA, ácido α -linolénico), generalmente considerados esenciales en la dieta de los animales. La Δ 12 desaturasa (“ ω x2”) de media la conversión de 18:1n-9 (ácido oleico) en LA, y posteriormente, la ω 3 desaturasa (“ ω x1”) cataliza la Δ 15 desaturación de LA a ALA. Además, la ω 3 desaturasa de *O. vulgaris* tiene capacidad Δ 17 hacia una variedad de C20 ω 6 PUFA que se convierten en sus productos ω 3 PUFA. Especialmente relevante fue la afinidad de la ω 3 desaturasa hacia el ARA (20:4n-6) para producir EPA (20:5n-3), tal y como apoyan en ensayos con la levadura heteróloga, y la actividad enzimática exhibida in vivo cuando las paralarvas fueron incubadas en presencia de [1-14C] 20:4 ω 6. Sus resultados, por tanto, confirmaron que varias rutas que permiten la biosíntesis de EPA son operativas en *O. vulgaris* mientras que el ARA y el DHA (22:6n-3) deben considerarse ácidos grasos esenciales ya que la producción endógena parece ser limitada (Fig. 6), coincidiendo con lo expuesto en el trabajo de Monroig et al. (2013). Con respecto a esto, Reis et al. (2019) señala que las paralarvas de *O. vulgaris* al tener una capacidad potencialmente baja de metabolizar TAG de la dieta, la Artemia no es un buen medio para incorporar DHA a estas, pero sí para obtener ARA y EPA.

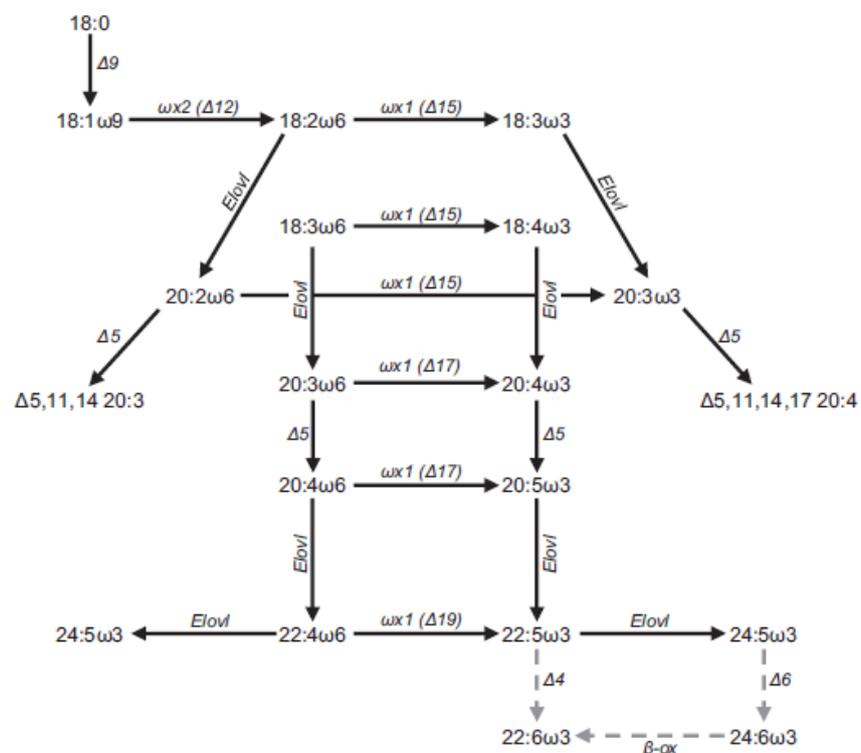


Figura 6. Ruta metabólica de los AG. Tomado de Garrido et al. (2019).

Con respecto al metabolismo intermediario, Morales et al. (2017) observaron que en sus resultados, a lo largo del período ontogénico estudiado, se produjo un aumento del metabolismo intermediario debido en gran parte a una mayor dependencia de las paralarvas del alimento exógeno. Sus estudios mostraron que esta actividad fue apoyada por la actividad de la octopina deshidrogenasa, con una contribución menor de la actividad de la lactato deshidrogenasa. En cuanto al metabolismo aeróbico, observaron que la utilización de aminoácidos se mantuvo durante todo el experimento. También se mostró un aumento significativo de la tasa de oxidación de los ácidos grasos a partir de los 6 días después de la eclosión. A baja, aunque sostenida, capacidad de síntesis de novo de glucosa a partir de aminoácidos y glicerol. Independientemente de la composición del alimento, la actividad de la glicerol quinasa aumentó significativamente unos días antes de un evento de mortalidad masiva. Esto podría estar relacionado con un desequilibrio metabólico en el estado redox responsable de la alta mortalidad. Así, la glicerol quinasa podría utilizarse como un eficaz biomarcador nutricional y de bienestar nutricional y de bienestar. Los estudios de este informe también revelaron el importante hallazgo de que la alimentación de las larvas con *Artemia* enriquecida con fosfolípidos mejoraba la viabilidad y el bienestar de los animales, aumentando significativamente la tasa de supervivencia y crecimiento de las paralarvas.

4.5. Asentamiento

A continuación, vamos a describir el proceso de transición entre la fase larvaria y juvenil bentónica sobre la cual hay pocos datos al ser difícil de conseguir en cautividad. En este sentido, Villanueva et al. (1995) describe que el asentamiento comienza cuando alcanzan un tamaño de 7,5 mm de longitud de manto, con el inicio del comportamiento de arrastre en el fondo del tanque de cría. A continuación, completaron la transición a la fase bentónica con 173 mg de peso húmedo (Villanueva, 1995). Okumura et al. (2005) informaron de que se observó un comportamiento de aferramiento a la pared del tanque en las paralarvas de *O. sinensis* a los 3,6-4,3 mg de peso seco y que se asentaron en el fondo del tanque a 6,2 mg de peso seco. En cuanto a la migración durante la fase de preasentamiento, se demostró que las paralarvas de *O. sinensis* que llegaban al final de la fase planctónica (aproximadamente 5 mg peso seco) muestran un comportamiento característico que alterna entre la natación de descenso diurno y la natación ascendente nocturna en la columna de agua, lo que indica que se preparan para el asentamiento durante el día y migrando al hábitat de asentamiento por la noche (Dan et al., 2020). Los

juveniles recién asentados muestran una fuerte fototaxis negativa y utilizan refugios como agujeros y conchas de gasterópodos (Itami et al., 1963; Villanueva, 1995).

Tras el asentamiento, los juveniles buscan presas en el fondo y la incidencia del canibalismo se intensifica, lo que indica que el hábito de alimentación cambia a bentívoro, lo que corresponde al del adulto como depredador de diversos animales bentónicos (Itami et al., 1964; Hamada, 1974; Smale & Buchan, 1981; Mather & O'dor, 1991; Fiorito & Gherardi, 1999; Roger Villanueva & Norman, 2008). Así, las observaciones de animales criados en laboratorio han proporcionado información ecológica fiable sobre el asentamiento de los pulpos, que es muy difícil de observa en medio salvaje, y ha mejorado en gran medida nuestra comprensión de los rasgos del ciclo vital del pulpo (Dan et al., 2021).

La modelización de los patrones de asentamiento de *O. vulgaris* en función de la temperatura en latitudes templadas, sugiere períodos planctónicos más cortos cuando la temperatura aumenta (desde principios de la primavera hasta mediados del verano) o períodos planctónicos más largos cuando la temperatura disminuye (durante el otoño y el invierno) (Katsanevakis & Verriopoulos, 2006), coincidiendo con lo observado por Repolho et al. (2014).

4.6. Últimos avances en el protocolo de cultivo de paralarvas

A continuación, pasamos a describir dos de los protocolos más importantes que se han desarrollado para el cultivo larvario de pulpos.

Por un lado vamos a describir el protocolo propuesto por Iglesias et al. (2014). Estos autores usan tanques cilindro-cónicos replicados de 500-1000 L. Recomiendan usar agua estancada, es decir, agua con microalgas para la 1ª semana, después el cual se abre el circuito durante 4h/día (100%/día de ratio de renovación). Se recomienda que el color de las paredes y el fondo del tanque sean negros, o también blancos (o claros) para el fondo, para mejorar la observación de las paralarvas. Con respecto a la temperatura, debe mantenerse entre 20-22°C y una salinidad de 32-35 psu.

Para la entrada del agua sugieren que la entrada de agua superficial sea tangencial para evitar en lo medida de lo posible un estrés y malestar para las paralarvas, y con respecto al drenaje, consiste en un tubo cilíndrico central con 250 µm por donde se va eliminando poco a poco el exceso de agua, y como las paralarvas siempre van a estar por debajo de la boca del tubo no hay peligro de que se vayan con el drenaje. Otra opción es utilizar agua estancada durante el día y abrir el flujo durante la noche con una malla de salida de 500 µm para mantener una cantidad homogénea de Artemia enriquecida.

Se recomienda limpiadores de superficie y una aireación central moderada para evitar que las larvas sufran daños, ya que se pueden formar burbujas en el manto (Iglesias et al, 2014). La intensidad de la luz en la superficie debe ser de 500-700 Lx para un fotoperiodo de 24 horas cuando se utilicen tanques con paredes negras y fondo negro, mientras que la intensidad de la luz puede ser de 60-250 Lx para un fotoperiodo de 14 h:10 h (L:D) cuando se utiliza un tanque de fondo claro (Iglesias & Fuentes, 2014).

Con respecto al alimento de las Artemias en los tanques de cultivo ha de utilizarse una concentración de 1×10^6 células/mL⁻¹ de *Nannochloropsis sp.* en el medio de cultivo (sistema de agua verde), y la concentración de paralarvas debe ser de 10 individuos L⁻¹. Las presas paralarvas deben consistir en Artemia de 24 h (0,5 Artemia/mL⁻¹) enriquecida con *Isochrysis galbana* a una concentración de $0,75 \times 10^6$ células/mL⁻¹ durante los primeros 15 días, seguida de Artemia más grande (1,5-2 mm TL) cultivada durante 4-5 días con *I. galbana* y enriquecida además con *Nannochloropsis sp.*, a una concentración de 1×10^7 células/mL⁻¹, manteniendo una concentración de presas de 0,3 Artemia/mL⁻¹. Cuando se utilicen zoea de centollo en la alimentación conjunta con Artemia, deben añadirse a una concentración de 0,05-0,1 individuos/mL⁻¹, al menos 3-4 días por semana, pero preferiblemente todos los días.

Con fines comparativos, se registrará la longitud total y el peso seco de 20 paralarvas al comienzo de los experimentos y periódicamente (se recomienda cada quince días) en cada ensayo de cría.

Por último, vamos a describir un protocolo desarrollado y patentado por el IEO (Tur et al., 2018), patente que se ha licenciado a la empresa Nueva Pescanova S.L. quien está probando su viabilidad a nivel industrial.

El experimento se lleva a cabo en tanque troncocónico de 1000 L de volumen, paredes y fondo negro, aireación en posición central y moderada evitando que la corriente creada por las burbujas de aire impiden a las paralarvas moverse libremente por el tanque. Una densidad de 5 paralarvas/litro y con unos valores para el oxígeno disuelto que oscilaron entre 5,5-6,7mg/L para un rango de temperatura de 18,5-21,3°C y una salinidad de 35 g/L (durante todo el período experimental). Se empleó agua verde hasta los 30 días, con una concentración de 10^6 cel./mL de *Nannochloropsis sp.* e *Isochrysis aff. galbana* en el momento de la adición de las microalgas. El tanque se mantuvo cerrado los dos primeros días, teniendo lugar lo que podríamos denominar como una “maduración“ del tanque (1ª diferencia con el procedimiento del estado de la técnica). Transcurridos este período se empieza a renovar (con agua filtrada a 1 micra con 30 filtros

cartucho), empezando con una tasa de renovación del 15-20% del volumen del tanque (10mL/s durante 5 horas) durante los siguientes 5 días, aumentando el tiempo de manera paulatina hasta llegar al 100% de la renovación a los 15 días. Este porcentaje se mantiene así hasta el día 30, a partir del cual se lleva a cabo una renovación continua (24 h al día) que representa una renovación en torno al 200% al día y que se mantendrá hasta el cierre del tanque a los 40 días de vida (2ª diferencia). La salida del agua se hizo a través de un tubo central con una malla de 300 micras y el nivel del agua se mantiene gracias a un tubo exterior.

Para la luz se usó un fluorescente de luz blanca fría de 35W situado sobre el borde 5 del tanque (en lugar de una posición central) provocando un cambio en el ángulo de incidencia de luz sobre la superficie y dando lugar a condiciones de luz heterogéneas dentro de la columna de agua, (3ª diferencia). Los valores de intensidad usados durante el ensayo quedarían englobados en tres niveles de intensidad. Los niveles utilizados van desde 600 a 800 lux (1077-1436 W/m²) para los primeros 15 días de vida y entre 300 a 600 lux (517-1077 W/m²) para el intervalo entre 15 y 40 días de vida. (4ª diferencia). Tuvo un fotoperíodo de 14:10 (luz:oscuridad), entre las 8:00 y las 22:00 h desde el primer día de vida hasta el final del ensayo.

Para alimentar a estas larvas se usaron anfípodos del género *Jassa sp.* a a partir del día 8 de vida, pues fue cuando se observó que una mayoría de larvas ingerían este tipo de presa. En este caso, la alimentación durante los primeros 8 días consistió únicamente en *Artemia*. y entre los 9-10 días se alimentaron con una mezcla de *Artemia* (75% del total de individuos) y anfípodos (25%) del género *Jassa spp.* de entre 1-3 mm de longitud. A partir de los 10 días, las larvas comenzaron a alimentarse exclusivamente de estos anfípodos (3-5 presas/paralarva/día), hasta el cierre del cultivo. Los resultados de crecimiento de las paralarvas presentaron un índice de crecimiento de 6,7% y una supervivencia del 70% a los 25 días.

5. Conclusiones

1. A pesar de los avances que se han hecho con respecto a la alimentación y nutrición de paralarvas de *Octopus vulgaris*, todavía queda mucho trabajo investigador en relación a sus requerimientos nutricionales, la selección de presas adecuadas y la composición de su microbiota gastrointestinal.
2. Es necesario llevar a cabo más investigaciones sobre la biología de las primeras fases de vida, tanto en individuos salvajes como cultivados, ya que la información obtenida es aún escasa, y en los tanques de crianza se pierden factores ambientales importantes presentes en el medio salvaje.
3. Se han desarrollado protocolos de cultivo que han mejorado de manera importante la supervivencia y crecimiento de las paralarvas de *Octopus vulgaris*, alguno de los cuales se están validando a nivel industrial. Sin embargo, aún queda mucho margen de mejora en numerosos aspectos entre los que podemos destacar la temperatura y la iluminación.
4. A pesar de los avances realizados en la fisiología y metabolismo de las paralarvas de pulpo común, quedan aún muchos aspectos donde profundizar con el fin de mejorar nuestros conocimientos relacionados con la nutrición y el bienestar de estos animales durante estas primeras fases de su desarrollo.

Agradecimientos

Agradecimientos a mis dos tutores, José Antonio y Eduardo Almansa, por haberme ayudado en este trabajo incluso en momentos que no tendrían que haberlo hecho, y más con un cambio tan repentino de tipo de trabajo por mi situación personal. Sin ellos esto habría sido imposible. A mi familia y amigos que en momentos en los que sentía que no podía sacarlo adelante, me han brindado su apoyo y me han infundido ánimos y ser, por fin, oficialmente biólogo marino el cual ha sido mi sueño desde que era pequeño. También a mis compañeros de máster por haberme brindado vivencias tan geniales, haber compartido conmigo tanto momentos malos como bueno y, por supuesto, brindarme su tan maravillosa amistad. En definitiva, este viaje ha sido duro e intrépido, pero sin el apoyo de mis allegados y buenas personas esto no habría sido posible.

6. Bibliografía

- Amor, M. D., Doyle, S. R., Norman, M. D., Roura, A., Hall, N. E., Robinson, A. J., Leite, T. S., & Strugnell, J. M. (2019). Genome-wide sequencing uncovers cryptic diversity and mito-nuclear discordance in the *Octopus vulgaris* species complex. *BioRxiv*, 573493. <https://doi.org/10.1101/573493>
- Amor, M. D., Norman, M. D., Cameron, H. E., & Strugnell, J. M. (2014). Allopatric speciation within a cryptic species complex of Australasian octopuses. *PLoS ONE*, 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098982>
- Amor, M. D., Norman, M. D., Roura, A., Leite, T. S., Gleadall, I. G., Reid, A., Perales-Raya, C., Lu, C. C., Silvey, C. J., Vidal, E. A. G., Hochberg, F. G., Zheng, X., & Strugnell, J. M. (2017). Morphological assessment of the *Octopus vulgaris* species complex evaluated in light of molecular-based phylogenetic inferences. *Zoologica Scripta*, 46(3), 275–288. <https://doi.org/10.1111/zsc.12207>
- Austin, B., Austin, D., Sutherland, R., Thompson, F., & Swings, J. (2005). Pathogenicity of vibrios to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*. *Environmental Microbiology*, 7(9), 1488–1495. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00847.x>
- Avendaño, O., Roura, Á., Cedillo-Robles, C. E., González, Á. F., Rodríguez-Canul, R., Velázquez-Abunader, I., & Guerra, Á. (2020). *Octopus americanus*: a cryptic species of the *O. vulgaris* species complex redescribed from the Caribbean. *Aquatic Ecology*, 54(4), 909–925. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09778-6>
- Berger, E. (2010). Aquaculture of *Octopus* species: present status, problems and perspectives. *The Plymouth Student Scientist*, 4(1), 384–399.
- Boletzky, S., & Mangold, K. (1973). New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*, 19(1), 7–12.
- Boletzky, S., & Villanueva, R. (2014). Cephalopod biology. In R. Iglesias, J., Fuentes, L. & Villanueva (Ed.), *Cephalopod culture* (pp. 3–17). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5>
- Boletzky, S. v. (1975). A contribution to the study of yolk absorption in the cephalopoda. *Zeitschrift Für Morphologie Der Tiere*, 80(3), 229–246. <https://doi.org/10.1007/BF00285654>
- Boletzky, S. V. (1989). Recent Studies on Spawning, Embryonic Development, and Hatching in the Cephalopoda. *Advances in Marine Biology*, 25(C), 85–115. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60188-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60188-1)
- Boletzky, S. V., & Hanlon, R. T. (1983). A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusc. *Memoirs of Museum Victoria*, 44, 147–187. <https://doi.org/10.24199/j.mmv.1983.44.11>
- Boletzky, Sigurd V. (1977). Post hatching Behaviour and mode of life in cephalopods. *Synposia of the Zoological Society of London*, 38, 557–567.
- Boucaud-Camou, E. (1990). La Seiche, un animal d’avenir. *Peche Maritime*, 69, 321–329.
- Boucher-Rodoni, R., Boucaud-Camou, E., & Mangold, K. (1987). Feeding and Digestion. In P. R. Boyle (Ed.), *Cephalopod life cycle* (pp. 85–108). Academic Press.
- Boyle, P. R., & Welfare, U. F. for A. (1991). *The ufaw handbook on the care and management of cephalopods in the laboratory*. Universities Federation for Animal Welfare.
- Boyle, P., & Rodhouse, P. (2007). Cephalopods: Ecology and Fisheries. In *Cephalopods: Ecology and Fisheries*. Blackwell Science. <https://doi.org/10.1002/9780470995310>

- Brown, M. R., Battaglione, S. C., Morehead, D. T., & Brock, M. (2005). Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris lineata*). *Aquaculture*, 248(1–4), 263–274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.018>
- Brunvold, L., Sandaa, R. A., Mikkelsen, H., Welde, E., Bleie, H., & Bergh, Ø. (2007). Characterisation of bacterial communities associated with early stages of intensively reared cod (*Gadus morhua*) using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). *Aquaculture*, 272(1–4), 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.053>
- Carrasco, F., Arronte, J. C., & Rodr, C. (2006). *Paralarval rearing of the common octopus, Octopus vulgaris (Cuvier, 1797)*. 1, 1601–1605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01594.x>
- Carrasco, J. F., Rodríguez, C., & Rodríguez, M. (2003). Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) utilizando como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. *IX Congreso Nacional de Acuicultura*, 191–194.
- Cerezo Valverde, J., & García García, B. (2004). Influence of body weight and temperature on post-prandial oxygen consumption of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*, 233, 599–613.
- Cerezo Valverde, Jesús, & García García, B. (2005). Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: Analysis of respiratory behaviour. *Aquaculture*, 244(1–4), 303–314. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.09.036>
- Chapela, A., González, Á. F., Dawe, E. G., Rocha, F. J., & Guerra, Á. (2006). *Growth of common octopus (Octopus vulgaris) in cages suspended from rafts*. 70(1), 121–129.
- D’Aniello, A., Strazzullo, L., D’Onofrio, G., & Pischetola, M. (1986). Electrolytes and nitrogen compounds of body fluids and tissues of *Octopus vulgaris* Lam. *J Comp Physiol B*, 156, 503–509.
- Dan, S., Iwasaki, H., Takasugi, A., Shibasaki, S., Yamazaki, H., Oka, M., & Hamasaki, K. (2019). Effects of co-supply ratios of swimming crab *Portunus trituberculatus* zoeae and *Artemia* on survival and growth of East Asian common octopus (*Octopus sinensis*) paralarvae under an upwelling culture system. *Aquaculture Research*, 50(4), 1361–1370. <https://doi.org/10.1111/are.14013>
- Dan, S., Shibasaki, S., Takasugi, A., Takeshima, S., Yamazaki, H., Ito, A., & Hamasaki, K. (2021). Changes in behavioural patterns from swimming to clinging, shelter utilization and prey preference of East Asian common octopus (*Octopus sinensis*) during the settlement process under laboratory conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 539(February), 151537. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2021.151537>
- Dan, S., Takasugi, A., Shibasaki, S., Oka, M., & Hamasaki, K. (2020). Ontogenic change in the vertical swimming of East Asian common octopus (*Octopus sinensis*) paralarvae under different water flow conditions. *Aquatic Ecology*, 54(3), 795–812. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09777-7>
- de Eguileor, M., Leonardi, M. G., Tettamanti, G., Fiandra, L., Giordana, B., Valvassori, R., & Lanzavecchia, G. (2000). Integumental amino acid uptake in a carnivorous predator mollusc (*Sepia officinalis*, Cephalopoda). *Tissue and Cell*, 32(5), 389–398. <https://doi.org/10.1054/tice.2000.0127>
- de Luna Sales, J. B., Haimovici, M., Ready, J. S., Souza, R. F., Ferreira, Y., de Cassia Silva Pinon, J., Costa, L. F. C., Asp, N. E., Sampaio, I., & Schneider, H. (2019). Surveying cephalopod diversity of the Amazon reef system using samples from red snapper stomachs and description of a new genus and species of octopus. *Scientific Reports*, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42464-8>

- De Wolf, T., Lenzi, S., & Lenzi, F. (2011). Paralarval rearing of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in Tuscany, Italy. *Aquaculture Research*, 42(9), 1406–1414. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02756.x>
- Díaz-Freije, E., Gestal, C., Castellanos-Martínez, S., & Morán, P. (2014). The role of DNA methylation on *Octopus vulgaris* development and their perspectives. *Frontiers in Physiology*, 5 FEB(February). <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00062>
- Domingues, P., Sykes, A., & Andrade, J. (2002). The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquaculture International*, 10(3), 207–220. <http://www.kluweronline.com/issn/0967-6120/contents>
- Domingues, P M, Kingston, T., Sykes, A., & Andrade, J. P. (2001). Growth of young cuttlefish. *Aquaculture Research*, 32, 923–930. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00631.x>
- Domingues, Pedro, Garcia, S., Hachero-Cruzado, I., Lopez, N., & Rosas, C. (2010). The use of alternative prey (crayfish, *Procambarus clarki*, and hake, *Merluccius gayi*) to culture *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Aquaculture International*, 18(3), 487–499. <https://doi.org/10.1007/s10499-009-9259-1>
- Domingues, Pedro M., Dimarco, F. P., Andrade, J. P., & Lee, P. G. (2005). Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquaculture International*, 13(5), 423–440. <https://doi.org/10.1007/s10499-005-6978-9>
- Domingues, Pedro M., Marquez, L., López, N., & Rosas, C. (2009). Effects of food thermal treatment on growth, absorption, and assimilation efficiency of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International*, 17(3), 283–299. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9200-z>
- Domingues, Pedro M., Sykes, A., & Andrade, J. P. (2001). The use of Artemia sp. or mysids as food source for hatchlings of the cuttlefish (*Sepia officinalis* L.); effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International*, 9(4), 319–331. <https://doi.org/10.1023/A:1020416811568>
- Domingues, Pedro, Sykes, A., Sommerfield, A., Almansa, E., Lorenzo, A., & Andrade, J. P. (2004). Growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture*, 229(1–4), 239–254. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00351-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00351-X)
- Estefanell, J., Mesa-Rodríguez, A., La Barbera, A., Fernández Palacios, H., Hernández Cruz, C., Izquierdo, M., & Socorro, J. (2015). Predación en paralarvas de *Octopus vulgaris*: efecto del color del tanque, tipo de luz y tipo de presa. *Libro de Actas, XV Congreso Nacional de Acuicultura*, 388–389.
- FAO. (2020). *FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2018*.
- Farías, A., Uriarte, I., Hernández, J., Pino, S., Pascual, C., Caamal, C., Domínguez, P., & Rosas, C. (2009). How size relates to oxygen consumption, ammonia excretion, and ingestion rates in cold (*Enteroctopus megalocyathus*) and tropical (*Octopus maya*) octopus species. *Marine Biology*, 156(8), 1547–1558. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1191-4>
- Fernández-López, A., Roo, J., Socorro, J., Hernández-Cruz, M. C., Fernández-Palacios, H., & Izquierdo, M. S. (2005). Crecimiento y supervivencia de paralarvas de *Octopus vulgaris* cultivadas bajo diferentes intensidades de luz. *X Congreso Nacional de Acuicultura*, 1–3.
- Feyjoo, P., Riera, R., Felipe, B. C., Skalli, A., & Almansa, E. (2011). Tolerance response to ammonia and nitrite in hatchlings paralarvae of *Octopus vulgaris* and its toxic effects on prey consumption rate and chromatophores activity. *Aquaculture International*, 19(1), 193–204. <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9352-5>

- Fields, J. H., Baldwin, J., & Hochachka, P. W. (1976). On the role of octopine dehydrogenase in cephalopod mantle muscle metabolism. *Canadian Journal of Zoology*, 54(6), 871–878. <https://doi.org/10.1139/z76-099>
- Fiorito, G., & Gherardi, F. (1999). Prey-handling behaviour of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) on Bivalve preys. *Behavioural Processes*, 46(1), 75–88. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(99\)00020-0](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(99)00020-0)
- Fiorito, Graziano, Affuso, A., Basil, J., Cole, A., de Girolamo, P., D'angelo, L., Dickel, L., Gestal, C., Grasso, F., Kuba, M., Mark, F., Melillo, D., Osorio, D., Perkins, K., Ponte, G., Shashar, N., Smith, D., Smith, J., & Andrews, P. Jr. (2015). Guidelines for the Care and Welfare of Cephalopods in Research –A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group. *Laboratory Animals*, 49, 1–90. <https://doi.org/10.1177/0023677215580006>
- Fisher, L. R., Kon, S. K., & Thompson, S. Y. (1956). Vitamin A and carotenoids in certain invertebrates. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 35(1), 63–80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0025315400008973>
- Fjellheim, A. J., Playfoot, K. J., Skjermo, J., & Vadstein, O. (2007). Vibrionaceae dominates the microflora antagonistic towards *Listonella anguillarum* in the intestine of cultured Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Aquaculture*, 269(1–4), 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.021>
- Forsythe, J. (1993). A working hypothesis of how seasonal temperature change may impact the field growth of young cephalopods. In T. Okutani, R. K. O'Dor, & T. Kubodera (Eds.), *Recent advances in cephalopod fisheries biology* (pp. 133–143). Tokai University Press.
- Forsythe, J. W., Walsh, L. S., Turk, P. E., & Lee, P. G. (2001). Impact of temperature on juvenile growth age at first egg-laying of the Pacific reef squid *Sepioteuthis lessoniana* reared in captivity. *Marine Biology*, 138(1), 103–112. <https://doi.org/10.1007/s002270000450>
- Forsythe, John, Lee, P., Walsh, L., & Clark, T. (2002). The effects of crowding on growth of the European cuttlefish, (*Sepia officinalis* Linnaeus, 1758) reared at two temperatures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269(2), 173–185. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00006-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00006-0)
- Forsythe, John W, & Toll, R. B. (1991). Clarification of the western atlantic ocean pygmy octopus complex : the identity and life history of *Octopus joubini* (Cephalopoda : Octopodinae). *Bulletin of Marine Science*, 49, 88–97.
- Forsythe, John W, & Van Heukelem, W. F. (1987). Cephalopod life cycles. In P. R. Boyle (Ed.), *Academic Press, Inc* (pp. 135–156). Academic Press, Inc.
- García-Fernández, P., García-Souto, D., Almansa, E., Morán, P., & Gestal, C. (2017). Epigenetic DNA methylation mediating *Octopus vulgaris* early development: Effect of essential fatty acids enriched diet. *Frontiers in Physiology*, 8(MAY), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00292>
- García-Garrido, S., Hachero-Cruzado, I., Garrido, D., Rosas, C., & Domingues, P. (2010). Lipid composition of the mantle and digestive gland of *Octopus vulgaris* juveniles (Cuvier, 1797) exposed to prolonged starvation. *Aquaculture International*, 18(6), 1223–1241. <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9335-6>
- García-Garrido, S., Hachero-Cruzado, I., Rosas, C., & Domingues, P. (2012). Protein and amino acid composition from the mantle of juvenile *Octopus vulgaris* exposed to prolonged starvation. *Aquaculture Research*, 44(11), 1741–1751. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03180.x>
- García, B. G., Cerezo Valverde, J., Aguado-Giménez, F., García García, J., & Hernández, M. D. (2009). Growth and mortality of common octopus (*Octopus vulgaris*) reared at different stocking densities in Mediterranean offshore cages. *Aquaculture Research*, 40(10), 1202–1212. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02222.x>

- García García, B., & Cerezo Valverde, J. (2006). Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. *Aquaculture*, 253(1–4), 502–511. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.055>
- García García, B., & Aguado Giménez, F. (2002). Influence of diet on on growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*, 211(1–4), 171–182. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00788-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00788-8)
- Garrido, D., Varó, I., Morales, A. E., Hidalgo, M. C., Navarro, J. C., Hontoria, F., Monroig, O., Iglesias, J., Otero, J. J., Estévez, A., Pérez, J., Martín, M. V., Rodríguez, C., Almansa, E., & Cardenete, G. (2017). Assessment of stress and nutritional biomarkers in cultured *Octopus vulgaris* paralarvae: Effects of geographical origin and dietary regime. *Aquaculture*, 468, 558–568. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.023>
- Garrido, Diego, Kabeya, N., Hontoria, F., Navarro, J. C., Reis, D. B., Martín, M. V., Rodríguez, C., Almansa, E., & Monroig, Ó. (2019). Methyl-end desaturases with $\Delta 12$ and $\omega 3$ regioselectivities enable the de novo PUFA biosynthesis in the cephalopod *Octopus vulgaris*. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(8), 1134–1144. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2019.04.012>
- Garrido, Diego, Martín, M. V., Rodríguez, C., Iglesias, J., Navarro, J. C., Estévez, A., Hontoria, F., Becerro, M., Otero, J. J., Pérez, J., Varó, I., Reis, D. B., Riera, R., Sykes, A. V., & Almansa, E. (2018). Meta-analysis approach to the effects of live prey on the growth of *Octopus vulgaris* paralarvae under culture conditions. *Reviews in Aquaculture*, 10(1), 3–14. <https://doi.org/10.1111/raq.12142>
- Garrido, Diego, Reis, D., Orol, D., Gonçalves, R., Martín, M., Sykes, A., Rodríguez, C., Felipe, B., Zheng, X., Lagos, L., & Almansa, E. (2017). Preliminary Results on Light Conditions Manipulation in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) Paralarval Rearing. *Fishes*, 2(4), 21. <https://doi.org/10.3390/fishes2040021>
- Gleadall, I. G. (2016). *Octopus sinensis* d'Orbigny, 1841 (Cephalopoda: Octopodidae): Valid species name for the commercially valuable East Asian common octopus. *Species Diversity*, 21(1), 31–42. <https://doi.org/10.12782/sd.21.1.031>
- Gómez, G. D., & Balcázar, J. L. (2008). A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 52(2), 145–154. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00343.x>
- González-Gómez, R., De Los Angeles Barriga-Sosa, I., Pliego-Cárdenas, R., Jiménez-Badillo, L., Markaida, U., Meiners-Mandujano, C., & Morillo-Velarde, P. S. (2018). An integrative taxonomic approach reveals *Octopus insularis* as the dominant species in the Veracruz Reef System (southwestern Gulf of Mexico). *PeerJ*, 2018(12), 1–30. <https://doi.org/10.7717/peerj.6015>
- Grigoriou, Panagiotis, & Richardson, C. A. (2009). Effect of body mass, temperature and food deprivation on oxygen consumption rate of common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Marine Biology*, 156(12), 2473–2481. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1272-4>
- Grigoriou, Panos, & Richardson, C. A. (2004). Aspects of the growth of cultured cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, 35(12), 1141–1148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01137.x>
- Guerra, Á., Roura, Á., González, Á. F., Pascual, S., Cherel, Y., & Pérez-Losada, M. (2010). Morphological and genetic evidence that *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) inhabits Amsterdam and Saint Paul Islands (southern Indian Ocean). *ICES Journal of Marine Science*, 67(7), 1401–1407. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsq040>
- Gunnarsli, K. S., Toften, H., & Mortensen, A. (2008). Effects of nitrogen gas supersaturation on

- growth and survival in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 283(1–4), 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.029>
- Halver, J. e. (2002). The vitamins. In J. e. Halver & R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition* (3rd ed., Vol. 13, pp. 61–141). Academic Press. <https://doi.org/10.2307/3415286>
- Hamada, S. (1974). Feeding behavior of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) on molluscs. *Venus*, 33(3), 138–143.
- Hamdan, M., Tomás-Vidal, A., Martínez, S., Cerezo-Valverde, J., & Moyano, F. J. (2014). Development of an in vitro model to assess protein bioavailability in diets for common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture Research*, 45(12), 2048–2056. <https://doi.org/10.1111/are.12155>
- Hargreaves, J. A., & Tucker, C. S. (1999). Design and Construction of Degassing Units for Catfish Hatcheries. *Souther Regional Aquaculture Center*, 191, 8.
- Harris, R. P., Wiebe, P. H., Lenz, J., Skjoldal, H. R., & Huntley, M. (2000). ICES Zooplankton Methodology Manual. In *ICES Zooplankton Methodology Manual*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-327645-2.x5000-2>
- Hochachka, P. W. (1994). Oxygen Efficient Design Of Cephalopod Muscle Metabolism. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 25(1–3), 61–67. <https://doi.org/10.1080/10236249409378908>
- Hochachka, P. W., & Fields, J. (1982). Arginine, Glutamate, and Proline as Substrates for Oxidation and for Glycogenesis in Cephalopod Tissues. *Pacific Science*, 36(3), 325–335. <http://hdl.handle.net/10125/465>
- Hochachka, P. W., Mommsen, T. P., & Storey, J. (1983). The relationship between arginine and proline metabolism in cephalopods. *Mar Biol Lett*, 4, 1–21.
- Huffard, C. L., & Hochberg, F. G. (2005). Description of a new species of the genus *Amphioctopus* (Mollusca: Octopodidae) from the Hawai'ian Islands. *Molluscan Research*, 25(3), 113–128.
- Hunt, S., & Nixon, M. (1981). A comparative study of protein composition in the chitin-protein complexes of the beak, pen, sucker disc, radula and oesophageal cuticle of cephalopods. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry And*, 68(4), 535–546. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(81\)90071-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(81)90071-7)
- Huxtable, R. J. (1992). Actions of Taurine. *Physiological Reviews*, 72(1), 101–163.
- Iehata, S., Valenzuela, F., & Riquelme, C. (2016). Evaluation of relationship between Chilean octopus (*Octopus mimus* Gould, 1852) egg health condition and the egg bacterial community. *Aquaculture Research*, 47(2), 649–659. <https://doi.org/10.1111/are.12525>
- Iglesias, J., & Fuentes, L. (2014). *Octopus vulgaris*. Paralarval culture. In J. Iglesias, L. Fuentes, & R. Villanueva (Eds.), *Cephalopod culture* (pp. 427–450). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5>
- Iglesias, J., Fuentes, L., Sánchez, J., Otero, J. J., Moxica, C., & Lago, M. J. (2006). First feeding of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) paralarvae using *Artemia*: Effect of prey size, prey density and feeding frequency. *Aquaculture*, 261(2), 817–822. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.002>
- Iglesias, J., Otero, J. J., & Moxica, C. (2000). Culture of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): Present knowledge, problems and perspectives. *Recent Advances in Mediterranean Aquaculture Finfish Species Diversification*, 321(47), 313–321.
- Iglesias, J., Otero, J. J., Moxica, C., Fuentes, L., & Sánchez, F. J. (2004). The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquaculture*

International, 12, 481–487. <https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000042142.88449.bc>

- Iglesias, J., Pazos, G., Fernández, J., Sánchez, F. J., Otero, J. J., Domingues, P., Lago, M. J., & Linares, F. (2014). The effects of using crab zoeae (*Maja brachydactyla*) on growth and biochemical composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae. *Aquaculture International*, 22(3), 1041–1051. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9725-7>
- Iglesias, J., Sánchez, F. J., Bersano, J. G. F., Carrasco, J. F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J. L., Okumura, S., Roo, J., van der Meeren, T., Vidal, E. A. G., & Villanueva, R. (2007). Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture*, 266(1–4), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.019>
- Iglesias, J., & Fuentes, L. (2013). Research on the production of hatchery-reared juveniles of cephalopods with special reference to the common octopus (*Octopus vulgaris*). In G. Allan & G. Bumell (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology* (1st ed., pp. 374–403). Woodhead Publishing Series in Food Science.
- Iglesias, José, & Fuentes, L. (2014). Octopus vulgaris. Paralarval culture. In Springer Science (Ed.), *Cephalopod Culture* (1^a, pp. 427–449). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5>
- Iglesias, José, Villanueva, R., & Fuentes, L. (2014). Cephalopod culture. *Cephalopod Culture*, 1–494. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5>
- Itami, K., Izawa, Y., Maeda, S., & Nakai, K. (1964). Notes on the laboratory culture of the octopus. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 11(6), 946. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0011-7471\(64\)90359-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0011-7471(64)90359-6)
- Jarošík, V., Honěk, A., & Dixon, A. F. G. (2002). Developmental rate isomorphy in insects and mites. *American Naturalist*, 160(4), 497–510. <https://doi.org/10.1086/342077>
- Jarošík, V., Kratochvíl, L., Honěk, A., & Dixon, A. F. G. (2004). A general rule for the dependence of developmental rate on temperature in ectothermic animals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(SUPPL. 4). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0145>
- Kaneko, N., Kubodera, T., & Iguchis, A. (2011). Taxonomic study of shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) in Japan and adjacent waters using mitochondrial genes with perspectives on octopus DNA barcoding. *Malacologia*, 54(1–2), 97–108. <https://doi.org/10.4002/040.054.0102>
- Katsanevakis, S., & Verriopoulos, G. (2006). Seasonal population dynamics of *Octopus vulgaris* in the eastern Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 63(1), 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.07.004>
- Kim, D. H., & Kim, D. young. (2013). Microbial diversity in the intestine of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 414–415, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.008>
- Koueta, N., & Boucaud-Camou, E. (2003). Combined effects of photoperiod and feeding frequency on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. in experimental rearing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 296(2), 215–226. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00322-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00322-8)
- Koueta, N., Boucaud-Camou, E., & Noel, B. (2002). Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture*, 203(3–4), 293–310. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00640-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00640-8)
- Kurihara, A., Okumura, S., Iwamoto, A., & Takeuchi, T. (2006). Feeding Pacific sandeel enhances DHA level in common octopus paralarvae. *Aquaculture Science (Japan)*, 54(4), 413–420.
- Lacoue-Labarthe, T., Warnau, M., Metian, M., Oberhänsli, F., Rouleau, C., & Bustamante, P. (2009).

- Biokinetics of Hg and Pb accumulation in the encapsulated egg of the common cuttlefish (*Sepia officinalis*): Radiotracer experiments. *Science of the Total Environment*, 407(24), 6188–6195. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.09.003>
- Lacoue-Labarthe, T., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J. L., Koueta, N., & Bustamante, P. (2008). Differential bioaccumulation behaviour of Ag and Cd during the early development of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquatic Toxicology*, 86(3), 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.005>
- Lacoue-Labarthe, Thomas, Le Bihan, E., Borg, D., Koueta, N., & Bustamante, P. (2010). Acid phosphatase and cathepsin activity in cuttlefish (*Sepia officinalis*) eggs: The effects of Ag, Cd, and Cu exposure. *ICES Journal of Marine Science*, 67(7), 1517–1523. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsq044>
- Lacoue-Labarthe, Thomas, Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J. L., & Bustamante, P. (2010). Contrasting accumulation biokinetics and distribution of 241Am, Co, Cs, Mn and Zn during the whole development time of the eggs of the common cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 382(2), 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.10.008>
- Lauzon, H. L., Gudmundsdottir, S., Petursdottir, S. K., Reynisson, E., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Bjornsdottir, R., & Gudmundsdottir, B. K. (2010). Microbiota of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) rearing systems at pre- and posthatch stages and the effect of different treatments. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5), 1775–1789. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04806.x>
- Lee, P. G. (1994). Nutrition Of Cephalopods: Fueling The System. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 25(1–3), 35–51. <https://doi.org/10.1080/10236249409378906>
- Lima, F. D., Berbel-Filho, W. M., Leite, T. S., Rosas, C., & Lima, S. M. Q. (2017). Occurrence of *Octopus insularis* (Leite and Haimovici, 2008) in the Tropical Northwestern Atlantic and implications of species misidentification to octopus fisheries management. *Marine Biodiversity*, 47(3), 723–734. <https://doi.org/10.1007/s12526-017-0638-y>
- Liñán-cabello, M. A., Hopkins, P. M., & Paniagua-Michel, J. (2002). Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutrition*, 8, 299–309.
- Lourenço, H. M., Anacleto, P., Afonso, C., Ferraria, V., Martins, M. F., Carvalho, M. L., Lino, A. R., & Nunes, M. L. (2009). Elemental composition of cephalopods from Portuguese continental waters. *Food Chemistry*, 113(4), 1146–1153. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.003>
- Lourenço, S. (2014). *Ecology of the Common Octopus Octopus vulgaris (Cuvier, 1797) in the Atlantic Iberian coast: Life cycle strategies under different oceanographic regimes.*
- Mangold, K. (1983). *Octopus vulgaris*. In Cephalopod Life Cycles. In P. R. Boyle (Ed.), *Species Accounts: Vol. I* (pp. 335–364). Academic Press.
- Márquez, L., Larson, M., & Almansa, E. (2021). Effects of temperature on the rate of embryonic development of cephalopods in the light of thermal time applied to aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 706–718. <https://doi.org/10.1111/raq.12495>
- Mather, J. A., & O'dor, R. K. (1991). Foraging strategies and predation risk shape the natural history of juvenile *Octopus vulgaris*. *Bulletin of Marine Science*, 49, 256–269.
- McIntosh, D., Ji, B., Forward, B. S., Puvanendran, V., Boyce, D., & Ritchie, R. (2008). Culture-independent characterization of the bacterial populations associated with cod (*Gadus morhua* L.) and live feed at an experimental hatchery facility using denaturing gradient gel electrophoresis. *Aquaculture*, 275(1–4), 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.021>
- Melzner, F., Bock, C., & Pörtner, H. (2007). *Allometry of thermal limitation in the cephalopod Sepia*

- officinalis*. 146, 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.07.023>
- Meziti, A., Ramette, A., Mente, E., & Kormas, K. A. (2010). Temporal shifts of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) gut bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 74(2), 472–484. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00964.x>
- Miliou, H., Fintikaki, M., Kountouris, T., & Verriopoulos, G. (2005). Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Aquaculture*, 249(1–4), 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.038>
- Miliou, H., Fintikaki, M., Tzitzinakis, M., Kountouris, T., & Verriopoulos, G. (2006). Fatty acid composition of the common octopus, *Octopus vulgaris*, in relation to rearing temperature and body weight. *Aquaculture*, 256(1–4), 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.050>
- Miyazaki, T., Nakahara, M., Ishii, T., Aoki, K., & Watabe, T. (2001). Accumulation of cobalt in newly hatched octopus *Octopus vulgaris*. *Fisheries Science*, 67(1), 170–172. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00214.x>
- Moe, M. A. (2009). *The Marine Aquarium Handbook : Beginner to Breeder* (3rd ed.). T.F.H. Publications.
- Mommsen, T. P., French, C. J., Emmett, B., & Hochachka, P. W. (1982). The Fate of Arginine and Proline Carbon in Squid Tissues. *Pacific Science*, 36(3), 343–348. <http://hdl.handle.net/10125/467>
- Monroig, Ó., Guinot, D., Hontoria, F., Tocher, D. R., & Navarro, J. C. (2012). Biosynthesis of essential fatty acids in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797): Molecular cloning, functional characterisation and tissue distribution of a fatty acyl elongase. *Aquaculture*, 360–361, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.016>
- Monroig, Ó., Tocher, D. R., & Navarro, J. C. (2013). Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: Recent advances in molecular mechanisms. *Marine Drugs*, 11(10), 3998–4018. <https://doi.org/10.3390/md11103998>
- Morales, A. E., Cardenete, G., Hidalgo, M. C., Garrido, D., Martín, M. V., & Almansa, E. (2017). Time course of metabolic capacities in paralarvae of the common octopus, *Octopus vulgaris*, in the first stages of life. searching biomarkers of nutritional imbalance. *Frontiers in Physiology*, 8(JUN), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00427>
- Morillo-Velarde, P. S., Cerezo Valverde, J., Hernández, M. D., Aguado-Giménez, F., & García García, B. (2012). Growth and digestibility of formulated diets based on dry and freeze-dried ingredients in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*, 368–369, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.028>
- Morillo-Velarde, Piedad S., Valverde, J. C., Llinares, R. M. S., & García, B. G. (2011). Energetic contribution of carbohydrates during starvation in common octopus (*Octopus vulgaris*). *Journal of Molluscan Studies*, 77(3), 318–320. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyr018>
- Morote, E., Rodríguez, M., Mancera, J. M., Moyano, F. J., & Muñoz, J. L. (2005). Las enzimas digestivas como indicadores del estado nutricional en paralarvas de pulpo *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Boletín - Instituto Español de Oceanografía*, 21(1–4), 177–186.
- Moxica, C., Linares, F., Otero, J. J., Iglesias, J., & Sánchez, F. J. (2002). Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), en tanques de 9 m³. *Boletín - Instituto Español de Oceanografía*, 18(1–4), 31–36.
- Nabhitabhata, J., Nilaphat, P., Promboon, P., & Jaroongpattananon, C. (2005). Life Cycle of Cultured Bobtail Squid, *Euprymna Hyllebergi* (Nateewathana, 1997). *Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull*, 66(January 2005), 351–365.

- Nande, M, Domingues, P., & Rosas, C. (2018). Effects of Temperature on Embryonic Development of *Octopus vulgaris*. *Journal of Shellfish Research*, 37(5), 1–7. <https://doi.org/10.2983/035.037.0500>
- Nande, Manuel, Presa, P., Roura, Á., Andrews, P. L. R., & Pérez, M. (2017). Prey capture, ingestion, and digestion dynamics of *Octopus vulgaris* paralarvae fed live zooplankton. *Frontiers in Physiology*, 8(AUG), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00573>
- Napoleão, P., Reis, C. S., Alves, L. C., & Pinheiro, T. (2005). Morphologic characterisation and elemental distribution of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) vestigial shell. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 231(1–4), 345–349. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2005.01.081>
- Navarro, J. C., Monroig, O., & Sykes, A. V. (2014). Nutrition as a Key Factor for Cephalopod Aquaculture. In José Iglesias, L. Fuentes, & R. Villanueva (Eds.), *Cephalopod Culture* (pp. 77–95). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5>
- Navarro, Juan C., & Villanueva, R. (2000). Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: An approach to their lipid requirements. *Aquaculture*, 183(1–2), 161–177. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00290-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00290-2)
- Navarro, Juan C., & Villanueva, R. (2003). The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: Deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture*, 219(1–4), 613–631. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00311-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00311-3)
- Nayak, S. K. (2010). Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41(11), 1553–1573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02546.x>
- Nixon, M., & Mangold, K. (1998). The early life of *Sepia officinalis*, and the contrast with that of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda). *Journal of Zoology*, 245(4), 407–421. <https://doi.org/10.1017/S0952836998008048>
- O’Dor, R. K., Balch, N., Foy, E. A., Hirtle, R. W. M., Johnston, D. A., & Amaratunga, T. (1982). Embryonic Development of the Squid, *Illex illecebrosus*, and Effect of Temperature on Development Rates. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 3, 41–45. <https://doi.org/10.2960/j.v3.a3>
- O’dor, R. K., Foy, E. A., Helm, P., & Balch, N. (1986). The locomotion and energetics of hatchling squid, *Illex illecebrosus*. *American Malacological Bulletin*, 4, 55–60.
- O’dor, R. K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M. J., & Wells, J. (1984). Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behaviour and Physiology*, 11(3), 239–258. <https://doi.org/10.1080/10236248409387049>
- Oestmann, D. J., Scimeca, J. M., Forsythe, J., Hanlon, R., & Lee, P. (1997). Special Considerations for Keeping Cephalopods in Laboratory Facilities. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 36(2), 89–93.
- Okumura, S., Kurihara, A., Iwamoto, A., & Takeuchi, T. (2005). Improved survival and growth in *Octopus vulgaris* paralarvae by feeding large type *Artemia* and Pacific sandeel, *Ammodytes personatus*: Improved survival and growth of common octopus paralarvae. *Aquaculture*, 244(1–4), 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.044>
- Olafsen, J. A. (2001). Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture*, 200(1–2), 223–247. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00702-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00702-5)
- Olmos-Pérez, L., Roura, Á., Pierce, G. J., Boyer, S., & González, Á. F. (2017). Diet composition and variability of wild *Octopus vulgaris* and *Alloteuthis media* (cephalopoda) paralarvae through a metagenomic lens. *Frontiers in Physiology*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00321>

- Oosthuizen, A., Roberts, M., & Sauer, W. (2002). Temperature effects on the embryonic development and hatching success of the squid *Loligo vulgaris reynaudii*. *Bulletin of Marine Science*, 71, 619–632.
- Parra, G., Villanueva, R., & Yúfera, M. (2000). Respiration rates in late eggs and early hatchlings of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80(3), 557–558. <https://doi.org/10.1017/S0025315400002319>
- Passarella, K. C., & Hopkins, T. L. (1991). Species composition and food habits of the micronektonic cephalopod assemblage in the eastern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 49((1-2)), 638–659.
- Petza, D., Katsanevakis, S., & Verriopoulos, G. (2006). Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed ad libitum on a high-lipid diet. *Marine Biology*, 148(4), 827–832. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0129-8>
- Pierce, G. J., Allcock, L., Bruno, I., Jereb, P., Lefkaditou, E., Malham, S., Moreno, A., Pereira, J., Piatkowski, U., Rasero, M., Sánchez, P., Santos, M. B., Santurtún, M., Seixas, S., Sobrino, I., & Villanueva, R. (2010). *ICES Co Operative Report NO. 303 AUGUST 2010 Cephalopod biology and fisheries in Europe Editors*.
- Pita, C., Roubledakis, K., Fonseca, T., Matos, F. L., Pereira, J., Villasante, S., Pita, P., Bellido, J. M., Gonzalez, A. F., García-Tasende, M., Lefkaditou, E., Adamidou, A., Cuccu, D., Belcari, P., Moreno, A., & Pierce, G. J. (2021). Fisheries for common octopus in Europe: socioeconomic importance and management. *Fisheries Research*, 235(July 2020). <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2020.105820>
- Pita, P., Fernández-Vidal, D., García-Galdo, J., & Muíño, R. (2016). The use of the traditional ecological knowledge of fishermen, cost-effective tools and participatory models in artisanal fisheries: Towards the co-management of common octopus in Galicia (NW Spain). *Fisheries Research*, 178, 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2015.07.021>
- Pörtner, H. O., & Zielinski, S. (1998). Environmental constraints and the physiology of performance in squids. *South African Journal of Marine Science*, 7615(20), 207–221. <https://doi.org/10.2989/025776198784126421>
- Quintana, D. (2009). *Valoración de los requerimientos nutricionales de reproductores de pulpo común (Octopus vulgaris)*. Universidad de La Laguna, Spain.
- Quintana, D., Márquez, L., Almansa, E., Bolaños, A., & Lorenzo, A. (2006). Efecto de la dieta de reproductores de pulpo común (*Octopus vulgaris*) en la composición bioquímica de paralarvas bajo condiciones de inanición. In L. E. et al Cruz Suárez (Ed.), *VIII International Symposium on Aquatic Nutrition*. Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo: Program and book of Abstracts, 78.
- Quintana, D., Márquez, L., Almansa, E., Rodríguez, E., & Lorenza, A. (2005). Efecto de la dieta suministrada a reproductores de pulpo común (*Octopus vulgaris*) sobre la calidad de puesta y la composición bioquímica de huevos y paralarvas. In Universidad politécnica de Valencia (Ed.), *X Congreso Nacional de Acuicultura* (pp. 350–351).
- Quintana, D., Rosas, C., & Moreno-Villegas, E. (2011). Relationship between nutritional and rearing parameters of *Octopus maya* juveniles fed with different rations of crab paste. *Aquaculture Nutrition*, 17(2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00772.x>
- Reis, D. B., Acosta, N. G., Almansa, E., Garrido, D., Andrade, J. P., Sykes, A. V., & Rodríguez, C. (2019). Effect of Artemia inherent fatty acid metabolism on the bioavailability of essential fatty acids for *Octopus vulgaris* paralarvae development. *Aquaculture*, 500(March 2018), 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.021>
- Repolho, T., Baptista, M., Pimentel, M. S., Dionísio, G., Trübenbach, K., Lopes, V. M., Lopes, A. R.,

- Calado, R., Diniz, M., & Rosa, R. (2014). Developmental and physiological challenges of octopus (*Octopus vulgaris*) early life stages under ocean warming. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 184(1), 55–64. <https://doi.org/10.1007/s00360-013-0783-y>
- Robson, G. C. (1929). A Monograph of the Recent Cephalopoda, Part I: Octopodinae. *British Museum of Natural History*.
- Roo, J., Estefanell, J., Betancor, M. B., Izquierdo, M., Fernández-Palacios, H., & Socorro, J. (2017). Effects of supplementation of decapod zoea to *Artemia* basal diet on fatty acid composition and digestive gland histology in common octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae. *Aquaculture Research*, 48(2), 633–645. <https://doi.org/10.1111/are.12910>
- Roper, F. E., Sweeney, M. J., & Nauen, C. E. (1984). Fao Species Catalogue. *FAO Fisheries Synopsis*, 11(125).
- Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domingues, P., & Cuzon, G. (2008). Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture*, 275(1–4), 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.015>
- Rosas, C., Valero, A., Caamal-Monsreal, C., Uriarte, I., Farias, A., Gallardo, P., Sánchez, A., & Domingues, P. (2013). Effects of dietary protein sources on growth, survival and digestive capacity of *Octopus maya* juveniles (Mollusca: Cephalopoda). *Aquaculture Research*, 44(7), 1029–1044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03107.x>
- Roura, Á., Doyle, S. R., Nande, M., & Strugnell, J. M. (2017). You are what you eat: A genomic analysis of the gut microbiome of captive and wild *Octopus vulgaris* Paralarvae and their zooplankton prey. *Frontiers in Physiology*, 8(MAY), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00362>
- Roura, Á., González, Á. F., Redd, K., & Guerra, Á. (2012). Molecular prey identification in wild *Octopus vulgaris* paralarvae. *Marine Biology*, 159(6), 1335–1345. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-1914-9>
- Sales, J. B. D. L., Rego, P. S. Do, Hildorf, A. W. S., Moreira, A. A., Haimovici, M., Tomás, A. R., Batista, B. B., Marinho, R. A., Markaida, U., Schneider, H., & Sampaio, I. (2013). Phylogeographical features of *Octopus vulgaris* and *Octopus insularis* in the southeastern atlantic based on the analysis of mitochondrial markers. *Journal of Shellfish Research*, 32(2), 325–339. <https://doi.org/10.2983/035.032.0211>
- Sargent, J. R., McEvoy, L. A., & Bell, J. G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155(1–4), 117–127. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00122-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00122-1)
- Sasaki, M. (1929). A monograph of dibranchiate cephalopods of the Japanese and adjacent waters. *Journal of the College of Agriculture, Hokkaido Imperial University, Sapporo* 20, 357.
- Sauer, W. H. H., Gleadall, I. G., Downey-Breidt, N., Doubleday, Z., Gillespie, G., Haimovici, M., Ibáñez, C. M., Katugin, O. N., Leporati, S., Lipinski, M. R., Markaida, U., Ramos, J. E., Rosa, R., Villanueva, R., Arguelles, J., Briceño, F. A., Carrasco, S. A., Che, L. J., Chen, C. S., ... Pecl, G. (2021). World Octopus Fisheries. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 29(3), 279–429. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1680603>
- Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L. M. P., & Otero, A. (2008). Producing juvenile *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture*, 283(1–4), 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.019>
- Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L. M. P., & Otero, A. (2010). High DHA content in *Artemia* is ineffective to improve *Octopus vulgaris* paralarvae rearing. *Aquaculture*, 300(1–4), 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.021>

- Seixas, S., Bustamante, P., & Pierce, G. J. (2005). Interannual patterns of variation in concentrations of trace elements in arms of *Octopus vulgaris*. *Chemosphere*, *59*(8), 1113–1124. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.099>
- Sen, H. (2005). Temperature Tolerance of Loliginid Squid (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798) Eggs in Controlled Conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *5*, 53–56. http://www.trjfas.org/pdf/issue_5_1/53_56.pdf
- Shiraki, M. (1997). Developmental program of seed production techniques for common octopus – finding the food of octopus larvae. *Saibai*, *84*, 41–43.
- Sidie, J., & Holloway, B. (1999). Geotaxis in the squid hatchling *Loligo pealei*. *American Zoologist*, *39*(74A).
- Smale, M. J., & Buchan, P. R. (1981). Biology of *Octopus vulgaris* off the east coast of South Africa. *Marine Biology*, *65*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/BF00397061>
- Sobrino, I., Juarez, A., Rey, J., Romero, Z., & Baro, J. (2011). Description of the clay pot fishery in the Gulf of Cadiz (SW Spain) for *Octopus vulgaris*: Selectivity and exploitation pattern. *Fisheries Research*, *108*(2–3), 283–290. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2010.12.022>
- Socorro, J., Roo, F., Izquierdo, M., García, J., & Carrom, M. (2004). Effect of different live prey *Grapsus grapsus* (Linnaeus, 1758), *Plagusia depressa* (Fabricius, 1775) and *Xantho poressa* (Olivi, 1792) zoeas over histology and biochemical composition of common octopus, *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) paralarvae. *XI International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish*.
- Söllner, R., Warnke, K., Saint-Paul, U., & Blohm, D. (2000). Sequence divergence of mitochondrial DNA indicates cryptic biodiversity in *Octopus vulgaris* and supports the taxonomic distinctiveness of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Marine Biology*, *136*(1), 29–35. <https://doi.org/10.1007/s002270050004>
- Star, B., Haverkamp, T. H. A., Jentoft, S., & Jakobsen, K. S. (2013). Next generation sequencing shows high variation of the intestinal microbial species composition in Atlantic cod caught at a single location. *BMC Microbiology*, *13*(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-248>
- Stéphan, G., Guillaume, J., & Lamour, F. (1995). Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n - 6 or n - 3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, *130*(2–3), 251–268. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00322-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00322-F)
- Storey, K. B., & Storey, J. M. (1979). Octopine metabolism in the cuttlefish, *Sepia officinalis*: Octopine production by muscle and its role as an aerobic substrate for non-muscular tissues. *Journal of Comparative Physiology. B*, *131*(4), 311–319. <https://doi.org/10.1007/BF00688806>
- Sullam, K. E., Essinger, S. D., Lozupone, C. A., O'Connor, M. P., Rosen, G. L., Knight, R., Kilham, S. S., & Russell, J. A. (2012). Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: A meta-analysis. *Molecular Ecology*, *21*(13), 3363–3378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05552.x>
- Sykes, A. V., Oliveira, A. R., Domingues, P. M., Cardoso, C. M., Andrade, J. P., & Nunes, M. L. (2009). Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(1), 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.010>
- Tur, R., Roura, Márquez, L., López, C., Lago, M. J., Mallorquín, M., & Almansa, E. (2018). Light conditions and heterogeneity in illumination affect growth and survival of *Octopus vulgaris* paralarvae reared in the hatchery. *Aquaculture*, *497*(July), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.062>
- Tur, R. et al. ES2714930. Procedimiento para el cultivo de paralarvas del pulpo común *Octopus*

vulgaris - Instituto Español de Oceanografía.

- Uriarte, I., Iglesias, J., Rosas, C., Viana, M. T., Navarro, J. C., Seixas, P., Vidal, E. A. G., Pereda, S., Godoy, F., Paschike, K., Farías, A., Olivares, A., & Zuñiga, O. (2011). Current Status and Bottle Neck of Octopod Aquaculture: The Case of American Species. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(6), 735–752. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00524.x>
- Varó, I., Navarro, J., Iglesias, J., Otero, J., Sánchez, J., Almansa, E., Monroig, Ó., Hontoria, F., Morales, A. E., & Cardenete, G. (2013). Studies on the characterisation of biomarkers of nutritionally-derived stress in paralarval cultures of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 78, 473–476.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., & Barbosa, A. (2004). Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): A review. *Aquaculture*, 238(1–4), 221–238. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.018>
- Vevers, H. G. (1961). Maintenance and breeding of *Octopus vulgaris* in an inland aquarium. *Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco*, 1(A), 125–130.
- Vidal, É. A. G., Fuentes, L., & da Silva, L. B. (2010). Defining *Octopus vulgaris* populations: A comparative study of the morphology and chromatophore pattern of paralarvae from Northeastern and Southwestern Atlantic. *Fisheries Research*, 106(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2010.08.009>
- Vidal, Erica A.G., DiMarco, F. P., Wormuth, J. H., & Lee, P. G. (2002). Influence of temperature and food availability on survival, growth and yolk utilization in hatchling squid. *Bulletin of Marine Science*, 71(2), 915–931.
- Vidal, Erica A.G., Roberts, M. J., & Martins, R. S. (2005). Yolk utilization, metabolism and growth in reared *Loligo vulgaris reynaudii* paralarvae. *Aquatic Living Resources*, 18(4), 385–393. <https://doi.org/10.1051/alr:2005040>
- Vidal, Erica Alves Gonzalez, Dimarco, F. P., Wormuth, J. H., & Lee, P. G. (2002). Influence of temperature and food availability on survival, growth and yolk utilization in hatchling squid. *Bulletin of Marine Science*, 71, 915–931.
- Vijai, D., Sakai, M., Wakabayashi, T., Yoo, H. K., Kato, Y., & Sakurai, Y. (2015). Effects of temperature on embryonic development and paralarval behavior of the neon flying squid *Ommastrephes bartramii*. *Marine Ecology Progress Series*, 529, 145–158. <https://doi.org/10.3354/meps11286>
- Villanueva, R. (1995). Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(12), 2639–2650. <https://doi.org/10.1139/f95-853>
- Villanueva, R., Escudero, J. M., Deulofeu, R., Bozzano, A., & Casoliva, C. (2009). Vitamin A and E content in early stages of cephalopods and their dietary effects in *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 286(3–4), 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.032>
- Villanueva, R., Riba, J., Koueta, N., & Boucaud-Camou, E. (2002). Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia nauplii* and compound diets. *Aquaculture*, 205(3–4), 269–286. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00678-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00678-0)
- Villanueva, R., Riba, J., Ruíz-Capillas, C., González, A. V., & Baeta, M. (2004). Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 242(1–4), 455–478. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.006>
- Villanueva, Roger. (1994). Decapod crab zoeae as food for rearing cephalopod paralarvae.

- Aquaculture*, 128(1–2), 143–152. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90109-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90109-0)
- Villanueva, Roger, & Bustamante, P. (2006). Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 261(1), 225–240. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.006>
- Villanueva, Roger, & Norman, M. D. (2008). Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography and Marine Biology*, 46, 105–202. <https://doi.org/10.1201/9781420065756.ch4>
- Villanueva, Roger, Nozais, C., & Boletzky, S. V. (1995). The planktonic life of octopuses. *Nature*, 377(6545), 107. <https://doi.org/10.1038/377107a0>
- Villanueva, Roger, Nozais, C., & Boletzky, S. V. (1997). Swimming behaviour and food searching in planktonic *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) from hatching to settlement. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 208(1–2), 169–184. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02670-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02670-6)
- Villanueva, Roger, Perricone, V., & Fiorito, G. (2017). Cephalopods as predators: A short journey among behavioral flexibilities, adaptations, and feeding habits. *Frontiers in Physiology*, 8(AUG), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00598>
- von Boletzky, Sigurd. (1992). Evolutionary aspects of development, life style, and reproductive mode in incirrate octopods (Mollusca, Cephalopoda). *Revue Suisse De Zoologie*, 99, 755–770.
- Walsh, L. S., Turk, P. E., Forsythe, J. W., & Lee, P. G. (2002). *Mariculture of the loliginid squid Sepioteuthis lessoniana through seven successive generations*. 212, 245–262.
- Warnke, K., Söller, R., Blohm, D., & Saint-Paul, U. (2004). A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): Indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 42(4), 306–312. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2004.00277.x>
- Wells, M. J., O’Dor, R. K., Mangold, K., & Wells, J. (1983). Diurnal changes in activity and metabolic rate in *Octopus vulgaris*. *Marine Behaviour and Physiology*, 9(4), 275–287. <https://doi.org/10.1080/10236248309378598>
- Wells, Martin John. (1978). *Octopus : physiology and behaviour of an advanced invertebrate* [Book]. Chapman and Hall.
- Werner, J. J., Koren, O., Hugenholtz, P., Desantis, T. Z., Walters, W. A., Caporaso, J. G., Angenent, L. T., Knight, R., & Ley, R. E. (2012). Impact of training sets on classification of high-throughput bacterial 16s rRNA gene surveys. *ISME Journal*, 6(1), 94–103. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.82>
- Young, R. E., & Harman, R. F. (1988). Larva, paralarvae and subadult in cephalopod terminology. *Malacologia*, 29, 201–207.
- Zhao, J., Shi, B., Jiang, Q. ru, & Ke, C. huan. (2012). Changes in gut-associated flora and bacterial digestive enzymes during the development stages of abalone (*Haliotis diversicolor*). *Aquaculture*, 338–341, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.016>
- Zlatanov, S., Laskaridis, K., Feist, C., & Sagredos, A. (2006). Proximate composition, fatty acid analysis and protein digestibility- corrected amino acid score of three Mediterranean cephalopods. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50(10), 967–970. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600003>