

TESIS DEFENDIDA POR
Fernando Girón Campero
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera
Director del Comité

Dr. Benjamin Barón Sevilla
Miembro del Comité

Dr. Ernesto García Mendoza
Miembro del Comité

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
*Coordinador del programa de posgrado
en Acuicultura*

Dr. David Hilario Covarrubias Rosales
Director de Estudios de Posgrado

02 de Diciembre de 2011.

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ACUICULTURA**

**EFFECTO DEL FOTOPERIODO EN EL CRECIMIENTO, SUPERVIVENCIA,
CONSUMO DE ALIMENTO Y PATRÓN DE PIGMENTACIÓN EN LARVAS DEL
LENGUADO DE CALIFORNIA *Paralichthys californicus*.**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Fernando Girón Campero

Ensenada, Baja California, México, Diciembre de 2011.

RESUMEN de la tesis de **Fernando Girón Campero**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en Acuicultura. Ensenada, Baja California. Diciembre de 2011.

EFFECTO DEL FOTOPERIODO EN EL CRECIMIENTO, SUPERVIVENCIA, CONSUMO DE ALIMENTO Y PATRÓN DE PIGMENTACIÓN EN LARVAS DEL LENGUADO DE CALIFORNIA *Paralichthys californicus*.

Resumen aprobado por:

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera
Director de Tesis

El lenguado de California *Paralichthys californicus* es una especie con un buen potencial para la acuicultura, que a pesar de ser nueva tiene un gran valor comercial y un crecimiento moderado. En años recientes el cultivo de esta especie inició en México principalmente en el norte del país. Sin embargo, al igual que en los cultivos de otras especies de peces planos todavía existen desafíos en la etapa larval, asociados al crecimiento, supervivencia y a la pigmentación. Estos retos se asocian con las condiciones de cultivo y están relacionados con la calidad del agua, deficiencias nutricionales y con la calidad, intervalo e intensidad de la luz y se reflejan por lo general en malformaciones, baja supervivencia y mala pigmentación, lo que provoca que los organismos pierdan valor comercial. En el presente trabajo se evaluó el efecto del fotoperiodo sobre el crecimiento, supervivencia, consumo de alimento y el patrón de pigmentación en larvas expuestas a 24L:0O, 14L:10O, 10L:14O y 0L:24O, (L:luz, O:oscuridad). Cada tratamiento fue evaluado por triplicado. Para cuantificar la tasa de ingestión se desarrolló una técnica fluorescente cuantitativa con base en la fluorescencia emitida por rotífero marcado con microesferas fluorescentes. Posteriormente se estableció la relación entre unidades de fluorescencia (gflu) y el número de rotíferos (Nrot) por medio de una regresión lineal. La ecuación que describe esta relación es ($Nrot = gflu + 0.0653 / 0.0191$, $r^2 = 0.95$). Se encontró que el crecimiento fue significativamente mayor en las larvas expuestas a 24, 14 y 10 horas de luz que en larvas expuestas en 0 horas de luz. El crecimiento de las larvas cultivadas bajo un fotoperiodo continuo (24L:0O) fue significativamente mayor a partir del día 5 después de la eclosión (DDE) y hasta el final de la metamorfosis comparado con los otros tratamientos. No obstante, la supervivencia fue significativamente mayor en 14 horas de luz (14L:10O) comparado con los otros tratamientos, sugiriendo alguna alteración de los procesos fisiológicos normales de las larvas por efecto del fotoperiodo. El consumo de alimento, así como el número de larvas que capturan presas fue significativamente mayor en los fotoperiodos 24, 14 y 10 horas de luz que en larvas bajo el fotoperiodo de 0 horas de luz. El tratamiento de 24 horas de

luz siempre mostró un consumo de alimento y larvas con alimento en el estómago significativamente mayor que los tratamientos de 14 y 10 horas de luz. Probablemente esto se debe a que las larvas presentaban un desarrollo más avanzado, así como una talla mayor desde una edad temprana lo cual les confiere una ventaja con respecto a las larvas de los otros tratamientos. Algo muy interesante es que las larvas cultivadas bajo el tratamiento 0L:24O lograron ingerir algunos rotíferos. Sin embargo, estas mantuvieron una tasa de ingestión baja y no lograron sobrevivir después de los 5 DDE. El número de peces con pigmentación normal al final de la metamorfosis fue significativamente mayor en 14 horas de luz comparado con el de 24 y 10 horas de luz.

Con base en los resultados del presente estudio se recomienda utilizar luz continua durante los primeros días de cultivo larvario. Sin embargo, aunque los avances son importantes y se logró obtener tallas mayores con fotoperiodos prolongados, no fue posible elucidar hasta cuando es recomendable utilizar fotoperiodos de 24 horas de luz para mejorar el crecimiento sin afectar la supervivencia y la pigmentación de las larvas del lenguado de California. Aparentemente existe una alteración al establecimiento normal del reloj endógeno del ciclo circadiano en esta especie con fotoperiodos prolongados. Por esto, es necesario realizar más estudios para entender los procesos fisiológicos alterados por ciclos e intensidad de la luz y obtener información que permita hacer modificaciones más precisas en el cultivo larvario, con el fin de aumentar la supervivencia y disminuir la pigmentación anormal del lenguado de California.

Palabras Clave: Lenguado de California, cultivo larvario, fotoperiodo, crecimiento, supervivencia, consumo de alimento, patrón de pigmentación.

ABSTRACT of the thesis presented by Fernando Girón Campero as a partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCE degree in Aquaculture. Ensenada, Baja California, México, December 2011.

THE EFFECT OF PHOTOPERIOD IN THE GROWTH, SURVIVAL, FOOD CONSUMPTION AND PIGMENTATION PATTERN DURING THE LARVAL STAGE OF CALIFORNIA HALIBUT *Paralichthys californicus*.

California halibut, *Paralichthys californicus*, is a high value commercial species considered to have great potential for aquaculture. In recent years cultivation of this species began in the northwestern part of Mexico. However, similar to other cultivated flatfish species, poor growth, survival and abnormal pigmentation are bottlenecks during larval development. This may be related, among other factors, to the lack of knowledge with respect to the effect of the photoperiod used in the larval culture of the California halibut. The resulting malformations, low survival, and poor pigmentation significantly decrease the overall commercial value of this species. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of photoperiod on growth, survival, food consumption and pigmentation in larvae reared under four light regimes. Larvae of *P. californicus* were exposed to four photoperiod regimens for 36 days; 1) 24 hours light: 0 hours darkness (24L: 0D), 2) 14-hours light: 10 hours darkness (14L: 10D), 3) 10 hours light: 14 hours darkness (10L: 14D) and 4) 0 hours light: 24 hours darkness (0L: 24D). Three replicates per treatment were used. Food consumption (rotifers) was quantified using a fluorescent technique. Rotifers were tagged with a fluorescent marker and the relationship between the number of rotifers (Nrot) in the gut and fluorescence (gflu) emitted of dissected guts ($Nrot = gflu + 0.0653/0.0191$, $r^2 = 0.95$) used to estimate food consumption. At the end of the experiment, growth (SL = 18.57 mm) was significantly higher in California halibut larvae exposed to the 24L:0D regimen compared to the other treatments. In general, ingestion rates were significantly higher in larvae exposed to the 24L:0D compared to other treatments, which would explain the higher growth observed. Interestingly we observed a very pronounced temporal pattern of feeding activity. Irrespective of light conditions larval feeding activity was low early in the morning (8 am) and late at night (8 pm) but was high in the afternoon (2 pm) and suggests changes to the typical early feeding regime for this species. Larval survivorship and normal pigmentation were significantly higher for 14L:10D compared to 24L:10D and 10L:14D. Larvae exposed to constant darkness (0L:24D) were able to ingest some rotifers, but died 5 days after hatching.

Based on this study, we can conclude that California halibut larvae consume more food in continuous light, which allows for faster growth and development and recommend the use of 24-light early in development and that feeding regime should concentrate on afternoon food supply. However, survival and normal pigmentation are poor in larvae exposed to continuous light or continuous darkness, which suggests there may be a disruption of the normal establishment of

the endogenous biological clock and photo-transduction system that regulates many physiological processes associated with development. Our results suggest a requirement for a light-dark cycle for normal development in California halibut larvae, but continuous light for the first couple of days may improve production in commercial hatcheries. Although this study contributes significantly to understanding larval development, survival, growth and food consumption in California halibut, the precise cause of poor pigmentation and low survival in this species remains unclear. Further investigation is required to elucidate the complex physiological changes influenced by cycles and intensity of light in order to better understand what modifications are required to reduce abnormal pigmentation, increase larval survival and improve the cultivation of California halibut.

Keywords: California halibut, larval culture, photoperiod, growth, survival, food consumption, pigmentation pattern.

Dedicatoria

A Estelfa Campero Chong.....mi madre

Agradecimientos

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), por haber permitido realizar el trabajo en las instalaciones del Departamento de Acuicultura.

Al Dr. Juan Pablo Lazo, por apoyarme en las decisiones tomadas para la realización de este trabajo, por la paciencia y atinadas sugerencias en este trabajo de investigación.

A la Granja The Cultured Abalone por donar los huevos fertilizados de lenguado, en especial a Douglas Bush por su gran apoyo y amistad.

A los biólogos Jesús Mariscal y Uvinai Salgado por su valioso apoyo incondicional en el manejo del alimento vivo y por los consejos sobre la etapa larval del lenguado.

Al Dr. Benjamin Barón Sevilla por siempre dejarme claro que es importante en un trabajo de investigación.

Al Dr. Ernesto García Mendoza por sus comentarios y aportes en la realización de este trabajo.

A Heather Thakar por su incondicional cariño y apoyo que de no haber estado, este trabajo nunca se hubiera realizado.

A la familia Leyva-Castañeda por el apoyo brindado durante mi estancia en Ensenada, en especial a Gustavo A. Leyva por permitirme vivir en su casa sin la necesidad de pagar ni un centavo, Muchas Gracias Maestro Gustavo.

A todo el personal del Departamento de Acuicultura, en especial a la Dra. Beatriz Cordero, por estar al pendiente de los avances de este trabajo y por su calidad humana.

A mis compañeros de generación y en especial a aquellos que compartieron momentos no académicos, los cuales fueron imprescindibles e inolvidables durante mi paso por Ensenada.

A mi familia por siempre estar pendiente de mí, al Señor de Esquipulas quien es el santo patrono de mi pueblo por sus bendiciones y por cuidarme cuando nadie estaba conmigo.

A José Antonio Mata por el apoyo brindado en el manejo de la técnica de fluorescencia, ya que sin su ayuda el trabajo hubiera sido difícil.

CONTENIDO

Resumen en español.....	iii
Resumen en inglés.....	v
Dedicatoria.....	vii
Agradecimientos.....	viii
Contenido.....	ix
Lista de figuras.....	xi
Lista de tablas.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
II.1 El lenguado de California.....	4
II.2 Etapa larval y juvenil.....	5
II.3 Crecimiento, alimentación y factores ambientales.....	5
II.4 La luz en el crecimiento de los peces.....	6
II.5 El fotoperido en peces planos.....	8
II.6 El fotoperido en otros peces.....	11
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
IV. JUSTIFICACIÓN.....	14
V. HIPÓTESIS.....	15
VI. OBJETIVOS.....	15
VI.1. Objetivo general.....	15
VI.2. Objetivos particulares.....	15
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
VII.1 Sistema de cultivo.....	16
VII.2 Diseño experimental.....	16
VII.3 Protocolo de alimentación.....	18
VII.2.1 Suministro de alimento vivo a las larvas.....	18
VII.3 Crecimiento larvario.....	19
VII.4 Tasa diaria de crecimiento instantáneo.....	19
VII.5 Supervivencia.....	20
VII.6 Tasa de ingestión.....	20
VII.7 Patrón de pigmentación.....	23
VII.8 Análisis estadístico.....	23
VIII. RESULTADOS.....	24
VIII.1 Crecimiento larvario de <i>Paralichthys californicus</i>	24
VIII.2 Tasa diaria de crecimiento instantáneo.....	26
VIII.3 Supervivencia de las larvas del lenguado de California.....	27
VIII.4 Tasa de ingestión en larvas del lenguado de California.....	28
VIII.4.1 Primer Bioensayo	28
VIII.4.2 Segundo Bioensayo.....	30
VIII.4.3 Larvas del lenguado de California con presas en el estómago.....	33
VIII.5 Patrón de pigmentación del lenguado de California.....	34

CONTENIDO (continuación)

IX. DISCUSIÓN.....	36
IX.2 Crecimiento, supervivencia y tasa de ingestión de <i>Paralichthys californicus</i>	36
IX.3 Patrón de pigmentación del lenguado de California.....	42
X. CONCLUSIONES.....	45
XII. LITERATURA CITADA.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Irradiancia de las lámparas utilizadas en el experimento como fuente de luz.	17
2	Regresión lineal entre el número de rotíferos con relación a la fluorescencia.	21
3	Longitud estándar del lenguado de California desde el día 0 hasta el día 36 DDE.	25
4	Supervivencia del lenguado de California antes y después de la metamorfosis.	28
5	Larvas que contenían rotíferos marcados con microesferas fluorescentes.	29
6	Tasas de ingestión en larvas del lenguado de California desde el día 3 al 10 DDE.	30
7	Tasa de ingestión en larvas del lenguado de California en el día 5 DDE, en un periodo de 6 horas durante 24 horas.	31
8	Tasa de ingestión en larvas del lenguado de California en el día 9 DDE, en un periodo de 6 horas durante 24 horas.	32
9	Tasa de ingestión en larvas del lenguado de California en el día 13 DDE, en un periodo de 6 horas durante 24 horas	33
10	Patrón de pigmentación del lenguado de California al final del experimento (36 DDE).	35

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Longitud estándar del lenguado de California desde el día 0 al 36 después de la eclosión	25
II	Tasa diaria de crecimiento instantáneo del lenguado de California	27
III	Número de larvas del lenguado de California con presas en el estómago	34

I. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de pescado, crustáceos y moluscos ha aumentado considerablemente en los últimos años y en el 2008 alcanzó los 142 millones de toneladas (FAO, 2010). La producción de la pesca de captura se ha mantenido estable alrededor de los 90 millones de toneladas desde 2001 y no hay perspectivas de que aumente significativamente. En contraste, la producción acuícola presenta un fuerte crecimiento, con una tasa de crecimiento anual del 6.2 por ciento, que representó un aumento de 38.9 millones de toneladas en 2003 a 52.5 millones de toneladas en 2008 (FAO, 2010). El valor de la producción acuícola fue estimado en 98.400 millones de USD en 2008 (FAO, 2010). En el 2007, el consumo mundial de pescado *per cápita* se estimó en 17.1 kg, en donde el pescado representaba el 16.1 por ciento del aporte de proteínas animales de la población mundial y el 6.2 por ciento de todas las proteínas consumidas (FAO, 2010).

Aunque la acuicultura sigue aumentando año con año, el principal cuello de botella en la acuicultura de peces marinos es el cultivo larval, ya que es en esta etapa donde se presenta una alta mortalidad. La mortalidad en esta etapa puede ser de aproximadamente entre 50 y 60% y en ocasiones hasta del 80% y esta asociada a problemas con la alimentación y condiciones de cultivo. Es por esto que es importante determinar entre otros factores, las condiciones ambientales óptimas de cultivo para larvas y los juveniles tempranos que ayude a maximizar la producción en los laboratorios de producción (Hart *et al.*, 1996).

El día y la noche, ciclos de luz, son algunas de las condiciones ambientales a la que están expuestos la mayoría de los organismos en la naturaleza. La exposición a los ciclos circadianos han causado adaptaciones fisiológicas específicas, que establecen una relación directa entre la conducta del organismo con los ciclos de luz. Los ciclos de luz provocan sincronización interna para la síntesis rítmica y liberación de hormonas (i.e., melatonina). Estas señales afectan los ritmos de tiempo y funciones fisiológicas en los peces (Bromage *et al.*, 2001). No obstante, aunque estos ciclos de luz (fotoperiodo) juegan un papel importante en ciclos

reproductivos de los organismos, el posible efecto del fotoperiodo en el crecimiento y supervivencia de larvas de peces marinos no ha sido ampliamente estudiado (Htun-Han, 1977; Vallone *et al.*, 2007).

De acuerdo con Barnabe, 1990; Chatain y Ounais-Guschmann, 1991; Battaglione, 1995; Hart *et al.*, 1996; Boeuf y Le Bail, 1999, uno de los parámetros físicos más importantes para el crecimiento y supervivencia de larvas de peces es el fotoperiodo, ya que la mayoría de las larvas de peces marinos son depredadores visuales y requieren de luz para alimentarse (Blaxter, 1980; Boeuf y Le Bail, 1999)., El uso de luz continua durante la etapa larval y la metamorfosis, ha mostrado mejores resultados en el rendimiento: supervivencia, crecimiento y desarrollo de muchas especies, probablemente porque aumenta el tiempo disponible para la captura de presas, pero no siempre es el caso (Hart *et al.*, 1996; Barlow *et al.*, 1995; Huber *et al.* 1999; Boeuf y Le Bail, 1999). El fotoperiodo óptimo para el desarrollo, crecimiento y supervivencia de larvas puede variar dependiendo de la especie y puede cambiar con la ontogenia de la larva (Fielder *et al.*, 2002). Por ejemplo, fotoperiodos más largos que el de las condiciones ambientales, incrementaron el crecimiento en larvas del pez conejo, *Siganus guttatus* (Duray y Kohno, 1988), la lobina europea, *Dicentrarchus labrax* (Barahona-Fernandes, 1979; Ronzani Cerqueira y Chatain, 1991), el barramundi, *Lates calcarifer* (Barlow *et al.*, 1995), y en la platija europea, *Rhombosolea tapirina* (Hart *et al.*, 1996). En contraste la supervivencia de larvas de algunas especies puede reducirse en fotoperiodos largos como por ejemplo en la lobina europea (Barahona-Fernandes, 1979; Ronzani Cerqueira y Chatain, 1991).

Otros factores como la densidad de presa, temperatura del agua, intensidad de la luz, irradiación ultra-violeta, flujo de agua y la turbulencia del agua tienen efecto importante sobre el desarrollo de las larvas, en específico en la metamorfosis de peces planos (Matsumoto y Seikai, 1992). La metamorfosis en peces planos implica cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos, alteraciones neurológicas y de comportamiento importantes que son muy estresantes para los peces, por lo

cual se deben mantener las condiciones ambientales óptimas antes y después de esta etapa (Youson, 1988).

En el lenguado del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) cultivado en cautiverio, la transición de la etapa larvaria a juvenil a menudo sufre disturbios exógenos y el resultado es, una migración incompleta del ojo, aleta dorsal con pterigióforos libres y mala pigmentación (Pittman *et al.*, 1998). En otras especies de peces planos ocurre algo similar (Houde, 1971; Bolker y Hill, 2000). La migración incompleta del ojo muchas veces resulta en la pérdida del ojo del lado ocular y puede influir en la captura del alimento. Generalmente, la mala calidad nutrimental de la presa es de las principales causas de una mala pigmentación (McEvoy *et al.*, 1998). Sin embargo, en ciertos casos aunque se mejore la calidad nutricional del alimento vivo, se presentan problemas durante la metamorfosis en juveniles de lenguado. Desafortunadamente, pocos estudios se han centrado en las posibles señales ambientales que pueden afectar la inducción de la metamorfosis de larvas de peces marinos. Es posible que antes del asentamiento, la larva necesite recorrer una gran distancia antes de encontrar las condiciones adecuadas para asentarse y es probable que las señales para la metamorfosis sean temporales y no topográficas, como es sugerido para el lenguado Solla del Pacífico, *Microstomus pacificus* (Markle *et al.*, 1992).

En el presente estudio se seleccionó como especie de trabajo al lenguado de California, *Paralichthys californicus*, por ser una de las especies de peces planos comerciales más importantes de los mares templados, y ser la especie que alcanza mayores tallas de toda la familia Paralichthyidae, con una longitud total de 1.5 m y un peso de 32 kg. En 1990, la pesca nacional de lenguado alcanzó 2.400 toneladas capturadas de peso vivo, sin embargo se estima que el porcentaje de captura del lenguado por la pesca comercial ha disminuido en un 80%. De manera general se reporta una disminución del 33% en las capturas de estos peces en los últimos diez años (Lazo *et al.*, 2004). Para el estado de California, E.U.A, las capturas comerciales del lenguado de California en 2009 fueron de 278 toneladas, con un valor de 2.6 millones de dólares, mientras que las capturas por pesca

deportiva fueron de 211 toneladas métricas (Fisheries Review, 2010). Sin embargo, no existe todavía cultivos comerciales que ofrezcan una alternativa a la creciente escases de esta especie.

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto que tiene el fotoperiodo en el crecimiento, supervivencia, consumo de alimento y en el patrón de pigmentación del lenguado de California, *Paralichthys californicus*.

II. ANTECEDENTES

II.1. El lenguado de California (*Paralichthys californicus*)

El lenguado de California se distribuye desde Bahía Magdalena, Baja California Sur, hasta el río Quillayute, Washington EE.UU (Fischer *et al.*, 1995). Es un pez plano que pertenece al Orden Pleuronectiformes, Familia Paralichthyidae, Género *Paralichthys* y a la especie *P. californicus*, que en sus estadios de vida larvaria y juvenil habita en aguas someras de fondos blandos arenosos y fangosos, característicos de los sistemas estuarinos de la costa Oeste de los EE.UU. y de Baja California, México (Gisbert *et al.*, 2002). En la época de desove, el lenguado migra hacia la costa en busca de aguas poco profundas (Clark 1931), donde desova a profundidades de 5 a 18 metros (Young 1960). Las hembras del lenguado de California desovan varias veces entre los meses de febrero a agosto, es decir es un desovador parcial, alcanzando el desove máximo en mayo (Ginsburg 1952; Conklin *et al.*, 2003). En etapa subadulta y adulta, cuando alcanza tallas entre 15 y 20 cm de longitud total, migra hacia aguas oceánicas profundas (Kucas y Hassler, 1986). En este desplazamiento los organismos se exponen a los cambios térmicos, de fotoperiodo, salinidad y de oxígeno disuelto en el agua, característicos de su hábitat transitorio y al cual pueden aclimatarse, probablemente causándoles cierto tipo de estrés en sus distintos estadios de vida (Madon, 2002).

Este pez es importante para la pesquería comercial y deportiva en el Sur y Centro de California. La reducción histórica en su desembarco comercial, entre 2.000 a 4.500 toneladas métricas anuales, ha impulsado el interés para su cultivo bajo

condiciones controladas (Piedrahita *et al.*, 2004). El lenguado de California *P. californicus*, es un excelente candidato para la maricultura ya que es un pez de buen sabor y muypreciado en la cocina gourmet. Asimismo, después de la metamorfosis transcurre su vida con un movimiento mínimo sobre el fondo marino por lo que gasta poca energía, lo cual puede reflejarse en altas tasas de conversión alimenticia y reducción en los costos de producción por consumo de alimento. Otra ventaja es que puede ser cultivado en altas densidades, tanto así que puede cultivarse en doble capa (i.e., unos encima de otros). Más de una década de trabajos en aspectos reproductivos en Redondo Beach, California, han permitido el dominio de la técnica para la obtención de crías de esta especie (Piedrahita *et al.*, 2004).

II.2. Etapa larval y juvenil

En la etapa larvaria, el lenguado de California es pelágico, llegando a asentarse en el fondo del mar en la etapa de postlarva después de la metamorfosis (Winzler y Kell en Consulting Engineers, 1977). Cuando alcanza una longitud estándar de 10 mm viven a profundidades de entre 12 a 45 m y a una distancia de la costa de 1.9 a 5.4 km. Las postlarvas mas grandes viven escondidas en la orilla, y muchas pueden observarse habitando las bahías (Plummer *et al.*, 1983). En los meses de junio-agosto los juveniles viven en el fondo sin moverse demasiado. Juveniles del lenguado de California comienzan a migrar a profundidades mayores cuando alcanzan una talla aproximadamente de 200 mm de longitud total (Frey 1971; Haaker 1975).

II.3. Crecimiento, alimentación y factores ambientales.

La edad y la tasa de crecimiento del lenguado de California en condiciones naturales fue reportada por Frey (1971) y Kucas y Hassler (1986). En donde se observó que el crecimiento de las hembras fue menor en el primero y segundo año de vida, comparado con el crecimiento de los machos. Las larvas y juveniles jóvenes del lenguado de California son planctófagas, pero eventualmente llegan a

alimentarse principalmente de peces. Por ejemplo, lenguados con menos de 55 mm de longitud total se alimentan de peces pequeños (i.e., gobios) y pequeños crustáceos tales como anfípodos, copepodos y micidaceos (Plummer *et al.*, 1983). La temperatura preferida para el lenguado de California de acuerdo con Innis (1980) es en el intervalo de entre 15 °C y 23 °C. Se cree que organismos con 100 mm de longitud total prefieren profundidades que van de los 6 metros a 30 metros, típicamente encontradas en las bahías. El lenguado adulto prefiere profundidades mayores de alrededor de los 100 metros y un sustrato arenoso (Jones y Stokes, Inc. 1981).

II.4. La luz en el crecimiento de los peces

La luz del sol es un factor físico ambiental muy importante en los peces, pero otras fuentes de luz secundarias, también son importantes en ciertos casos, como la luz de la luna, la luz de las estrellas y la luz de organismos luminiscentes. La luz es esencial para la vida, tanto para plantas y animales (Boeuf y Le Bail, 1999). La luz es extremadamente variable en intensidad, calidad y fotoperiodo y puede variar muy rápidamente. En particular, la luz muestra cambios y características importantes en el ambiente acuático. Por ejemplo, la calidad (i.e., las diferentes longitudes de onda que son absorbidas por el agua en distintas profundidades), la cantidad y periodicidad (sobre los ciclos diarios, los cuales varían de acuerdo a la estación del año y a la latitud). Es importante resaltar que los efectos de la luz en el desarrollo y crecimiento de los organismos pueden ser confundidos o enmascarados por otros factores ambientales, tales como la temperatura y la actividad alimenticia. Por lo que aún no se logra elucidar claramente de que manera la luz afecta a la tasa de crecimiento y desarrollo de los peces en el ambiente natural (Sumpter, 1992).

El fotoperiodo o ciclos variados de luz varía de acuerdo a la rotación de la tierra y su órbita alrededor del sol. Los animales se han adaptado a estos cambios cíclicos de luz por la evolución de un sistema circadiano o reloj biológico para mantener la noción del tiempo, sincronizar y anticiparse a los acontecimientos periódicos, tales

como la salida y puesta del sol, que afectan la fisiología rítmica de la secreción de hormonas (Peirson *et al.*, 2009). Por ello los animales más complejos han desarrollado fotorreceptores y un mecanismo de reloj endógeno durante la ontogenia temprana (Peirson *et al.*, 2009). Estos fotorreceptores no retinianos o mejor conocido como fotorreceptores de la glándula pineal, juegan un papel clave durante el desarrollo larvario. Sin embargo, los mecanismos por los cuales estas estructuras sensibles a la luz detectan señales de fotoperiodo y desencadenan acontecimientos fisiológicos, todavía no se entiende bien en los peces. No obstante, se sabe que estímulos de luz percibida por la glándula pineal son transducidos a través de señales neuronales en una señal hormonal a través de la secreción rítmica de melatonina, la hormona que regula muchos procesos metabólicos rítmicos en el organismo y que ayuda a establecer un reloj endógeno (Amano *et al.*, 2003; Falcon *et al.*, 2010; Migaud *et al.*, 2010).

En el laboratorio es fácil controlar los periodos de luz en sistemas intensivos de crianza y de esta manera saber la respuesta de los peces a diferentes condiciones de luz. Algunos estudios se han realizado evaluando este efecto (Boeuf y Le Bail, 1999). Se sabe que para el lenguado del Atlántico, *Hippoglossus hippoglossus* durante la alimentación endógena, la intensidad de la luz óptima es muy baja, en intervalos de 1 a 10 lux. Sin embargo, Daniels y colaboradores (1996) encontraron que en el lenguado del sur, *Paralichthys lethostigma*, intensidades de luz entre 340-1600 lux fueron adecuadas para un buen crecimiento y la metamorfosis. En contraste, Denson y Smith (1997), trabajando con la misma especie concluyen que no hay efectos de estas intensidades de luz sobre el crecimiento, pero sí sobre la pigmentación después de la metamorfosis.

Karlsen (1998) evaluó cuatro intensidades de luz blanca (2.0, 0.3, 0.03 y 0.005 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, λ_{max} 590 nm) utilizando un fotoperiodo con luz continua (24L:0O), un tratamiento en oscuridad total continua (0L:24O) y un fotoperiodo con ciclos de luz-oscuridad (12L:12O) y tres luces de colores a intensidades iguales (0.03 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en los espectros; azul, verde y rojo (λ_{max} 450, 560 y 670 nm, respectivamente), en el lenguado del Atlántico. Este autor concluye que el color de

la luz no tuvo un efecto aparente sobre la longitud total de las larvas y el consumo del saco vitelino. Sin embargo, la luz blanca más intensa ocasionó un incremento en la actividad natatoria de las larvas en los días 24 y 30 después de la eclosión (DDE), resultando en una reducción temporal de la longitud para las larvas en este grupo, comparado con los otros tratamientos. Las larvas de todos los tratamientos alcanzaron el mismo tamaño para el día 34 DDE.

II.5. El fotoperiodo en peces planos

Algunas investigaciones se han centrado en conocer el efecto del fotoperiodo en la supervivencia y el crecimiento de peces planos. En el lenguado japonés, *Paralichthys olivaceus*, se realizó una serie de experimentos para conocer el efecto que tiene el fotoperiodo (24L:0O y 12L:12O), densidad de presa, densidad de siembra y sustrato. Los resultados demuestran que todas estas variables tienen un efecto particular. Por ejemplo, el efecto puntual del fotoperiodo es claro, ya que larvas expuestas a 24 horas de luz mostraron un incremento en el crecimiento en un 20% (tasa de crecimiento específico $G = 0.046\% \text{ día}^{-1}$) comparadas con larvas expuestas a 12L:12O ($G = 0.037\% \text{ día}^{-1}$). Los autores concluyen que exponer a las larvas a 24 horas de luz mejora significativamente el crecimiento larval (Dou *et al.*, 2003).

Por su parte, Cañavate *et al.*, 2006 evaluaron diversos fotoperiodos (14L:10O, 10O:14L y 24L:0O) en larvas del lenguado senegalés, *Solea senegalensis* y encontraron que larvas de 8 DDE necesitan de luz para poder alimentarse de rotíferos. Así mismo reportan no haber encontrado alimento en el estómago en larvas del tratamiento 14L:10O después de 10 horas en oscuridad. De manera similar menos del 30% de las larvas del tratamiento 10O:14L tenían alimento en el estómago después de 7 horas en oscuridad. En el tratamiento (24L:0O), la incidencia de alimentación dependió de la edad de las larvas, incrementando de un $67 \pm 4\%$ (3 DDE) hasta $93 \pm 4\%$ (8 DDE). En este mismo tratamiento, la incidencia de alimentación cambia con la edad de estas, es decir, aunque las larvas se encuentran en luz continua capturan presas en horas específicas de la

mañana y tarde, a pesar de estar con luz durante la noche (24L:0O). En los fotoperiodos 14L:10O y 10O:14L, las larvas se alimentan continuamente durante la fase de luz, y de acuerdo a lo encontrado en el tratamiento bajo luz continua, estos investigadores sugieren que existe un ritmo circadiano de alimentación. Sin embargo, estos autores no encontraron un efecto del fotoperiodo en la tasa de ingestión en ninguno de los tratamientos. Así mismo, no encontraron diferencias significativas en el crecimiento por efecto del fotoperiodo. La supervivencia fue alta en todos los tratamientos, de $74.5 \pm 2.9\%$, $81.1 \pm 7.8\%$ y $80.0 \pm 5.2\%$ para los fotoperiodos: 14L:10O, 10O:14L y 24L:0O, respectivamente. Estos investigadores concluyen que el uso de una fase de 10 horas de oscuridad en larvas de *S. senegalensis* puede contribuir a una mejor producción de juveniles.

Fuchs (1978) evaluó el efecto de tres fotoperiodos (12L:12O, 18L:6O y 24L:0O) en el lenguado Sol, *Solea solea*. El autor, encontró que durante la etapa larval, no existe diferencia en la supervivencia entre los tratamientos, pero sí se obtuvo un mejor crecimiento en peso hasta los 15 DDE con fotoperiodos de 18L:6O (7 mg) y 24L:0O (7.8 mg) comparado con el fotoperiodo de 12L:12O (4.5 mg). Sin embargo, desde la metamorfosis hasta una edad de tres meses (peso promedio de 1g) no se encontró efecto significativo del fotoperiodo, tanto en supervivencia como en crecimiento. Esto sugiere que el efecto del fotoperiodo en esta especie es estadio específico.

Hart y colaboradores (1996) trabajaron con larvas de la especie *Rhombosolea tapirina*, para determinar el fotoperiodo óptimo, temperatura y salinidad hasta la metamorfosis. Cada factor se analizó por separado; y en particular para el fotoperiodo se evaluó: (1) 24L:0O; (2) 18L:6O; (3) 9L:3O + 9L:3O; (4) 12L:12O; (5) 6L:18O; (6) 24O:0L. Los resultados obtenidos en éste estudio fue un mejor crecimiento de las larvas en los fotoperiodos 24L:0O (6.50 ± 0.11 mm), 18L:6O (6.43 ± 0.13 mm) y 9L:3O+9L:3O (6.53 ± 0.03 mm). Larvas expuestas a fotoperiodos de 12L:12O (6.01 ± 0.06 mm) resultaron en tallas significativamente más pequeñas que las larvas de los tratamientos con fotoperiodos 24L:0O, 18L:6O y 9L:3O+9L:3O. Así mismo, las larvas cultivadas en fotoperiodo de 6L:18O

(4.30 ± 0.07 mm) resultaron en tallas significativamente más pequeñas que en todos los otros tratamientos. Para el tratamiento 0L:24O las tallas alcanzadas fueron de 2.96 ± 0.00 mm, para el día 10 DDE. Sin embargo, las larvas en este tratamiento mueren al día 20 DDE. No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia al final del experimento (20 DDE) entre los tratamientos 24L:0O, 18L:6O, 9L:3O + 9L:3O, 12L:12O y 6L:18O, concluyendo que utilizando periodos prolongados de luz se mejora significativamente el crecimiento y la supervivencia en larvas de esta especie.

En 2004, Solbakken y Pittman realizaron un estudio en larvas del lenguado del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) para evaluar el efecto que tiene modular el fotoperiodo en larvas de esta especie. Se cultivaron larvas hasta los 66 DDE (longitud estándar de 17 mm que corresponde al inicio de la metamorfosis) bajo un fotoperiodo de 24L:0O. A partir de esta edad, las larvas fueron divididas en dos grupos con cuatro réplicas cada uno, uno fue expuesto a luz continua (24L:0O) y el otro grupo fue puesto bajo un régimen de 12L:12O. El experimento concluyó a los 116 DDE y se encontró que el fotoperiodo tuvo un efecto en la supervivencia ya que fue significativamente más alta para el tratamiento 24L:0O (69.7%) que para el grupo de 12L:12O (57.3%). Después de 11 días de exposición al nuevo fotoperiodo (77 DDE), la longitud estándar fue significativamente mayor bajo el fotoperiodo 24L:0O (19.3 ± 0.2 mm) que bajo 12L:12O (18.3 ± 0.2 mm). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la longitud total entre fotoperiodos al final del experimento. Estos investigadores concluyen que el fotoperiodo afecta durante los primeros días de cultivo de la etapa larvaria de esta especie. Mientras que en la etapa juvenil el crecimiento no se ve afectado por el fotoperiodo, por lo que concluyen que el fotoperiodo puede tener un efecto distinto antes y después de la metamorfosis en algunos peces planos.

Harboe y colaboradores (2009) encontraron que utilizando ciclos de luz similares a los naturales (17L:7O) tiene un efecto positivo en el régimen de alimentación de las larvas del lenguado del Atlántico. Mientras tanto, Simensen y colaboradores (2000) evaluaron durante los primeros dos meses de vida el efecto del fotoperiodo

en juveniles del lenguado del Atlántico. Para esto utilizaron un tratamiento de 24L:00 y otro de 8L:16O hasta el final del experimento. Así mismo evaluaron otro tratamiento combinado de 8L:16O durante el primer mes, y 24L:00 (8L:16O-24L:00) hasta el final del experimento. Como grupo control expusieron larvas al fotoperiodo natural de Bergen, Noruega (LDN) país en que el hicieron este estudio, que de acuerdo a los meses en que realizaron el experimento presentaba un fotoperiodo de 8L:16O. Los peces expuestos a 24L:00 durante todo el experimento tuvieron una alta tasa de crecimiento específica ($G=1.05\% \text{ día}^{-1}$), a diferencia de las larvas expuestas al fotoperiodo natural de Bergen ($G=0.98\% \text{ día}^{-1}$). Así mismo, en los peces expuestos todo el tiempo a 8L:16O, el crecimiento fue pobre ($G=0.80\% \text{ día}^{-1}$). Sin embargo, el grupo que fue expuesto por un mes a 8L:16O y cambiado a un fotoperiodo de 24L:00 hasta el final del experimento, la tasa de crecimiento absoluta fue de $0.94\% \text{ día}^{-1}$. Se obtuvo un crecimiento pobre al principio pero subsecuentemente la tasa de crecimiento incrementó al ser expuestos a 24L:00. La mortalidad fue significativamente alta en el tratamiento expuesto al fotoperiodo natural de Bergen y en el tratamiento de 8L:16O que fue cambiado a 24L:00 con valores de 17.4% y 17.1% respectivamente, comparada con los tratamientos 24L:00 y 18L:6O que tuvieron valores de 6.2% y 6.8% respectivamente. Los autores concluyen que luz continua (24L:00) puede ser usada para mejorar el crecimiento y la supervivencia en juveniles del lenguado del Atlántico.

II.6. El fotoperiodo en otros peces

De manera general el estudio del fotoperiodo resulta importante también para muchas especies de peces marinos no planos, tal como lo señala Shan y colaboradores (2008). Ellos trabajaron con el corvinón Nibe, *Miichthys miiuy* con el objetivo de conocer el efecto del fotoperiodo en el crecimiento, mortalidad y enzimas digestiva (tripsina, amilasa y lipasa) en etapa larval y juvenil. Utilizaron cuatro fotoperiodos: 24L:00, 18L:6O, 12L:12O y 0L:24O. Las larvas no lograron alimentarse en 0L:24O y no sobrevivieron después del día 8 DDE. Al comparar los

tratamientos 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O no encontraron diferencias significativas del efecto del fotoperiodo sobre el crecimiento hasta el día 20 después de la eclosión (DDE). Sin embargo, al final del experimento (53 DDE) la longitud total del tratamiento 18L:6O fue 40.5 mm estadísticamente igual que el tratamiento 24L:0O (40 mm), pero significativamente mayor que el tratamiento 12L:12O (30.4 mm). La tasa de crecimiento específica (G) fue significativamente mayor en 18L:6O y 24L:0O comparados con tratamiento 12L:12O. El fotoperiodo afectó la mortalidad al inicio del experimento (5 DDE), siendo alta en larvas expuestas a 0L:24O (60%) comparado con los fotoperiodos 18L:6O y 12L:12O que fueron 20% y 27%, respectivamente. No se encontró diferencia significativa en mortalidad entre los otros fotoperiodos. Los autores concluyen que las larvas de esta especie necesitan periodos de más de 12 horas de luz para mejorar su crecimiento y supervivencia.

El efecto del fotoperiodo (24L:0O, 18L:6O, 12L:12L, 6L:18O y 0L:24O) fue evaluado por Shi y colaboradores (2010) en el pez globo japonés, *Takifugu obscurus*. Los autores observaron al final del experimento (19 DDE), que la tasa de crecimiento específica en 24L:0O ($6.11 \pm 0.03\% \text{ dia}^{-1}$) fue significativamente mayor que los tratamientos 18L:6O ($5.70 \pm 0.12\% \text{ dia}^{-1}$), 12L:12O ($5.37 \pm 0.02\% \text{ dia}^{-1}$) y 6L:18O ($3.44 \pm 0.11\% \text{ dia}^{-1}$). La supervivencia fue significativamente mayor en 24L:0O ($95.87 \pm 0.32\%$) comparado con los tratamientos 18L:6O ($88.73 \pm 1.61\%$), 12L:12O ($83.02 \pm 0.57\%$) y 6L:18O ($72.54 \pm 4.12\%$). Larvas cultivadas bajo oscuridad total presentan un crecimiento lento y todas murieron a los 15 DDE. Estos autores concluyen que para el pez globo a medida que se incrementa el periodo de luz, aumenta el crecimiento y la supervivencia de las larvas. Adicionalmente, la oscuridad continua provoca una alta mortalidad.

El efecto del espectro de la luz y del fotoperiodo antes de la eclosión y hasta el día 40 DDE fueron evaluados en huevos fertilizados y larvas, de la lobina europea por Villamizar *et al.*, (2009). Tanto los huevos como las larvas fueron cultivadas bajo 5 diferentes tratamientos de luz: 12L:12O (luz roja), 12L:12O (luz azul), 12L:12O (luz blanca), 24L:0O (luz blanca) y 0L:24O. Se encontró que la longitud total a los 40

DDE fue significativamente mayor en larvas cultivadas bajo luz azul y un fotoperiodo de 12L:12O (15.4 ± 0.6 mm) y 24L:0O en luz blanca (15.2 ± 0.6 mm) que en larvas cultivadas bajo luz roja y un fotoperiodo de 12L:12O (11.7 ± 0.7 mm). Larvas bajo el tratamiento 0L:24O no capturaron alimento y la mortalidad fue del 100% al día 18 DDE. Las larvas bajo el tratamiento en luz roja (12L:12O) no consumieron rotíferos, pero si Artemia a partir del día 16 DDE. Se obtuvo una supervivencia significativamente mayor en los tratamientos 24L:0O con luz blanca ($24.2 \pm 4.5\%$), luz azul (12L:12O; $21.6 \pm 2.6\%$) y luz roja (12L:12O; $19.2 \pm 2.7\%$) que bajo el tratamiento de luz blanca con fotoperiodo 12L:12O ($11.6 \pm 0.5\%$). Los autores concluyen que utilizando fotoperiodos de 24L:0O con luz blanca y 12L:12O con luz azul, se afecta positivamente tanto al crecimiento como a la supervivencia.

Puvanendran y Brown (2002) investigaron el efecto de tres fotoperiodos (24L:0O, 18L:6O y 12L:12O; bajo una intensidad de luz de 1200 lux) sobre la búsqueda del alimento, crecimiento y supervivencia en el bacalao, *Gadus morhua*, desde el nacimiento hasta la metamorfosis (42 DDE). El fotoperiodo tuvo un efecto en el crecimiento de las larvas con valores significativamente menores de longitud estándar en los organismos cultivados bajo 12L:12O (5 mm) que los tratamientos 18L:6O (6.8 mm) y 24L:0O (9.2 mm). La supervivencia fue significativamente mayor en el tratamiento 24L:0O (28%) que en los tratamientos 18L:6O (8%) 12L:12O (4%). Entre los días 0-28 DDE la tasa de crecimiento específico fue significativamente mayor en 24L:0O comparado con los otros tratamientos. Sin embargo entre los días 29-42 DDE, la tasa de crecimiento específica fue estadísticamente igual entre tratamientos. Estos autores concluyen que al incrementar el periodo de luz se incrementa el crecimiento y la supervivencia aunque solo en los primeros días de cultivo.

Trotter y colaboradores en 2003 evaluaron el efecto del fotoperiodo y la intensidad de la luz en el cultivo larval del trompetero australiano, *Latris lineata*. Evaluaron los siguientes fotoperiodos 12L:12O, 18L:6O y 24L:0O y concluyeron que el fotoperiodo y la intensidad de la luz afectan al crecimiento y supervivencia en

larvas de esta especie. En el fotoperiodo 18L:6O la talla final fue (6.65 ± 0.09 mm), la cual fue significativamente mayor que en el tratamiento 12L:12O (6.28 ± 0.08 mm), pero igual con el tratamiento 24L:0O (6.38 ± 0.06 mm). Entre los tratamientos 12L:12O y 24L:0O no se encontraron diferencias significativas. La supervivencia fue significativamente mayor en 24L:0O ($21.3 \pm 2.2\%$) que en el tratamiento 12L:12O ($9.1 \pm 2.2\%$) pero estadísticamente igual con el tratamiento 18L:6O ($16.7 \pm 3.9\%$). No encontraron diferencias en la supervivencia entre los tratamientos 12L:12O y 18L:6O.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo larval es el cuello de botella en la maricultura de peces marinos, esto se debe por lo general a la falta de conocimiento sobre varios de los factores bióticos y abióticos que determinan el desarrollo en esta etapa de vida de los peces. Se ha reportado que para los peces planos el fotoperiodo juega un papel importante en la ingesta de alimento, supervivencia, crecimiento, patrones de pigmentación y en la metamorfosis (principalmente en la migración del ojo). Por lo tanto, en el presente trabajo se evaluó el efecto del fotoperiodo en el cultivo larvario del lenguado de California (*Paralichthys californicus*).

IV. JUSTIFICACIÓN

Aunque se han logrado muchos avances en el desarrollo de la tecnología de cultivo del lenguado de California, aún existen desafíos en el cultivo larvario del lenguado de California. En particular, no siempre se obtienen supervivencias superiores al 40%, las tasas de crecimiento son relativamente lentas y una proporción elevada de organismos tiene una pigmentación anormal al final de la metamorfosis. Esto pudiera estar relacionado entre otros factores a la falta de control de los periodos de luz que se utilizan en la etapa larvaria del lenguado de California. Por lo tanto en el presente trabajo se buscó mejorar el rendimiento del cultivo larvario de ésta especie, evaluando el efecto del fotoperiodo durante el cultivo larval.

V. HIPÓTESIS

La exposición a un periodo continuo de luz (24L:0O) influye directamente en el consumo de alimento en larvas del lenguado de California *Paralichthys californicus*. Por lo tanto, contrastando esta condición con fotoperiodos naturales (14L:10O y 10L:14O) y un fotoperiodo de luz continua (24L:0O);

1. Incrementará significativamente el crecimiento de las larvas.
2. Aumentará la supervivencia al final de la metamorfosis.
3. El patrón de pigmentación normal de las larvas será mayor.

VI. OBJETIVOS

VI.1. Objetivo general:

- Evaluar el efecto del fotoperiodo en el crecimiento, supervivencia, consumo de alimento y patrón de pigmentación en el lenguado de California *Paralichthys californicus*.

VI.2. Objetivos particulares:

- Evaluar el efecto de 24L:0O, 14L:10O, 10L:14O y 0L:24O en el crecimiento y supervivencia en larvas del lenguado de California.
- Evaluar el efecto de 24L:0O, 14L:10O, 10L:14O y 0L:24O en las tasas de consumo de rotíferos en larvas del lenguado de California bajo condiciones de cultivo.
- Evaluar el efecto de 24L:0O, 14L:10O, 10L:14O y 0L:24O en el patrón de pigmentación de las larvas del lenguado de California al final de la metamorfosis.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo experimental se llevó a cabo en el verano de 2011 en el laboratorio húmedo del Departamento de Acuicultura del CICESE, utilizando huevos fertilizados de *Paralichthys californicus*, obtenidos de desoves naturales de reproductores mantenidos en cautiverio. Los huevos fueron donados por la granja The Cultured Abalone, ubicada en Goleta, Santa Barbara, California, E.U.A.

VII.1. Sistema de cultivo

Las larvas de *P. californicus* fueron cultivadas en tanques circulares con fondo plano de fibra de vidrio de 200 litros de capacidad con un volumen útil de 125 litros a una densidad de 15 larvas por litro. Se utilizó un sistema de recirculación, en donde se emplearon bombas, filtros biológicos y mecánicos para evitar la acumulación de materia orgánica, la acumulación de compuestos nitrogenados tóxicos y reducir la aparición de enfermedades. La temperatura del agua se mantuvo a 21 ± 0.5 °C y el oxígeno disuelto entre 6-8 mg/l. Estos dos parámetros fueron medidos con un oxímetro YSI, modelo 85 (YSI, Ohio, USA). La salinidad se mantuvo cercana a 36 ppm y el pH entre los 7.5-8.5. Ambos variables se midieron con un potenciómetro de la marca YSI, modelo 63 (YSI, Ohio, USA). Así mismo, se mantuvo el amonio total en ≤ 1.0 mg L⁻¹ N-NH₃, el cual fue monitoreado con un kit comercial de Aquarium Pharmaceuticals (U.S.A). Todos los parámetros se mantuvieron según lo recomendado para el cultivo de esta especie (Gisbert *et al.*, 2004). Con el fin de tener un control óptimo de estos factores, su monitoreo se realizó diariamente en la mañana y en la tarde.

VII.2. Diseño experimental

El experimento consistió en evaluar el efecto de 4 fotoperiodos en el crecimiento, supervivencia, consumo de alimento y patrón de pigmentación del lenguado de California. Para esto se utilizaron los siguientes tratamientos; 1) 24 horas luz y 0 horas de oscuridad (24L:0O), 2) 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad ((14L:10O); 07:00-21:00), 3) 10 horas de luz y 14 horas de oscuridad ((10L:14O);

07:00-17:00) y 4) 0 horas de luz con 24 horas de oscuridad(0L:24O). Cada tratamiento se evaluó por triplicado. El tiempo de duración del experimento fue de 36 días. Todos los tanques de cultivo se colocaron dentro de un cuarto oscuro.

Para poder trabajar en su interior sin perturbar a las larvas, se instalaron lámparas de luz roja de 15 watts (Philips, Bulbo Twister), a las cuales se les caracterizó su emisión con un espectrofotómetro ILT-900W (International Light Technologies). Se realizó esta medición con el fin de corroborar que de luz emitida por las lámparas se encontrara entre longitudes de onda de 600 y 700 nm (ver figura 1) ya que la mayoría de las larvas de peces no perciben la luz en este intervalo de longitudes de onda (McFarland y Munz, 1975; Gruber *et al.*, 1991; Shad, 1993; Britt *et al.*, 2001). La luz roja se encendía durante la alimentación, toma de muestras y el registro de factores físicos y químicos en aquellos tratamientos que no necesitaban luz visible.

A cada tanque se le instaló una tapadera, que tenía en el centro una lámpara de luz fluorescente de 23 watts (Philips, Bulbo Twister). Se caracterizó la emisión espectral de estas lámparas con un espectrofotómetro ILT-900W (International Light Technologies) con el fin de corroborar que la emisión estuviera dentro del espectro visible para larvas de peces marinos según Munz y McFarland, 1975; Gruber *et al.*, 1991 (ver figura 1). En el tratamiento 0L:24O, no se colocaron lámparas, pero si una tapadera. Las lámparas instaladas en la tapadera fueron la única fuente de luz visible para los peces durante el experimento. Se realizó la medición de la intensidad de la luz en la superficie del agua de los tanques de cultivo, con un Luxómetro Demestre Profesional (LX 102) la cual fue de 1900 lux.

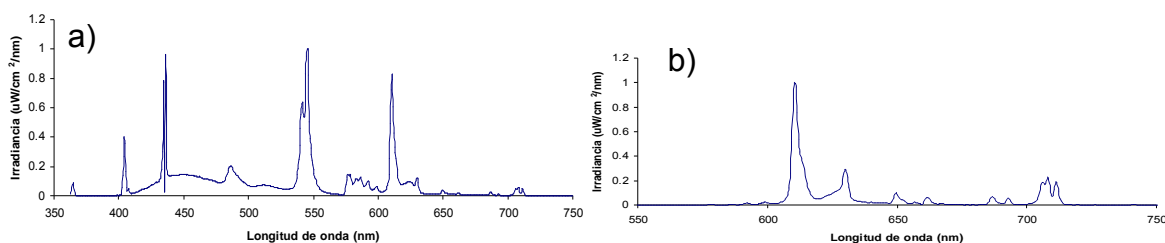


Figura 1.- Irradiancia espectral relativa de las lámparas utilizadas en el experimento como fuente de luz. a) Lámpara de luz blanca, b) Lámpara de luz roja.

VII.3. Protocolo de alimentación

VII.3.1 Suministro de alimento vivo a las larvas

La alimentación exógena de las larvas inició a los dos días después de la eclosión (DDE), con rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis* enriquecidos con ácidos grasos utilizando un enriquecedor comercial “Algamac 3000” según las recomendaciones del proveedor (BioMarine, Hawthorne, U.S.A). Los rotíferos fueron suministrados a las larvas a una densidad inicial de 5 rotíferos/mL, incrementándose a 15 rotíferos/mL a los 9 DDE. Esta concentración se mantuvo hasta los 13 DDE. Entre los 14 y 17 DDE las larvas fueron co-alimentadas con metanauplios de artemia enriquecidos con ácidos grasos utilizando el mismo enriquecedor que para los rotíferos; Algamac 3000 (BioMarine, Hawthorne, U.S.A). El suministro de rotíferos fue disminuyendo paulatinamente en una proporción de 75, 50 y 25 % durante tres días. Después de los 17 DDE, las larvas fueron alimentadas únicamente con metanauplios de artemia enriquecidos con ácidos grasos, manteniéndose una densidad de 5 nauplios/mL hasta el final de la fase experimental.

Las larvas de los diferentes tratamientos fueron alimentadas 3 veces por día, con un tiempo entre alimentaciones de 5 horas, iniciando la primera alimentación a las 8:00 de la mañana y la última a las 18:00 de la tarde. El registro de factores físicos y químicos se realizó en la primera y tercera alimentación. Para la primera y segunda alimentación, se realizó el siguiente procedimiento y utilizando una lámpara de mano de luz blanca para poder ver dentro del cuarto. Primero se

alimentaron los tratamientos 24L:00, 14L:10O y 10L:14O, mientras que el tratamiento 0L:24O no se manipuló en este momento. Terminando de alimentar los tratamientos que recibían luz, cada uno de los tanques fue cerrado e inmediatamente se encendieron las lámparas de luz roja del cuarto oscuro y se alimentó el tratamiento 0L:24O.

Para la tercera alimentación el procedimiento fue similar al utilizado en la primera y segunda alimentación, con la diferencia de que en esta ocasión primero se alimentaron los tratamientos 24L:00 y 14L:10O, y hasta que los tanques fueron cerrados y se encendieron las lámparas de luz roja se alimentaron los tratamientos 10L:14O y 0L:24O. Terminando de alimentar, los tanques quedaron cerrados y las lámparas de luz roja se apagaron, quedando el cuarto en oscuridad total.

VII.4. Crecimiento larvario

Para llevar a cabo el registro del crecimiento de las larvas, se tomaron muestras cada día a partir del día 0 y hasta los 10 DDE, recolectando 30 larvas al azar de cada tanque. Así mismo, se colectaron 30 larvas los días 13, 17, 22, 28 y 36 DDE. Inmediatamente después se registró la longitud estándar (LE, desde la boca hasta el final del notocordio), utilizando un microscopio estereoscópico Wild Heerbrug (MAX ERB Instrumental Company, U.S.A) acoplado con una reglilla en el ocular. Estas larvas fueron utilizadas para medir las tasas de ingestión, con el fin de no sacrificar más organismos. Posteriormente, las larvas fueron fijadas en solución Davidson y formalina fría.

VII.5. Tasa diaria de crecimiento instantáneo (TDCI)

Se estimó la tasa diaria de crecimiento instantáneo de las larvas durante tres periodos; (1) del día 0 al 10 DDE, (2) del día 10 al 22 DDE y (3) del 22 al 36 DDE, con el fin de conocer el porcentaje del incremento en longitud por día (%L/día) durante la etapa de alimentación con rotíferos, transición de rotíferos a Artemia, y antes y después de la metamorfosis. Se utilizó la fórmula propuesta por Hardy y Barrows (2002):

$$\text{Tasa diaria de crecimiento instantáneo (\%L/día)} = (e^{GL} - 1) * 100$$

En donde GL es la tasa de crecimiento específico que fue calculada previamente de acuerdo a la siguiente formula : $(\ln L1 - \ln L0)/t$. En donde $\ln L1$ es el logaritmo natural de la talla final, $\ln L0$ es el logaritmo natural de la talla inicial y t es el tiempo en días. e es un valor logarítmico constante que tiene un valor de 2.72.

VII.6. Supervivencia

La supervivencia se calculó de acuerdo al número de organismos al inicio del cultivo y al final de la etapa de alimentación con rotíferos, es decir, hasta el día 13 DDE. Así mismo se calculó la supervivencia al final del experimento, al día 36 DDE.

VII.7. Tasa de ingestión

Para cuantificar el número de presas (rotíferos) consumidas por larva en los bioensayos, se marcaron los rotíferos con microesferas fluorescentes siguiendo el método descrito por Canino y Bailey (1995) y Wuenschel y Werner (2004). Se utilizaron partículas o microesferas fluorescentes de color rojo insolubles en agua e indigeribles (4.5-5.0 μm de diámetro, Radiant Color Co., CA, USA). Sin embargo, como estos investigadores solo observaron la presencia o ausencia de presas en el estómago de la larva, pero no la cantidad de rotíferos consumidos por la larva, se desarrolló una técnica fluorescente cuantitativa con base en la fluorescencia emitida por cada rotífero marcado con las microesferas fluorescentes. Para esto se utilizaron diferentes cantidades de rotíferos marcados y se registró la fluorescencia emitida por estos. Posteriormente se estableció la relación entre unidades de fluorescencia (FIU) y el número de rotíferos por medio de una regresión lineal (Figura 2). La ecuación que describe esta relación es $y=0.0191x-0.0653$ (coeficiente de regresión de $r^2=0.95$, $P < 0.000$), donde "x" es el número de rotíferos y la "y" representa la fluorescencia emitida.

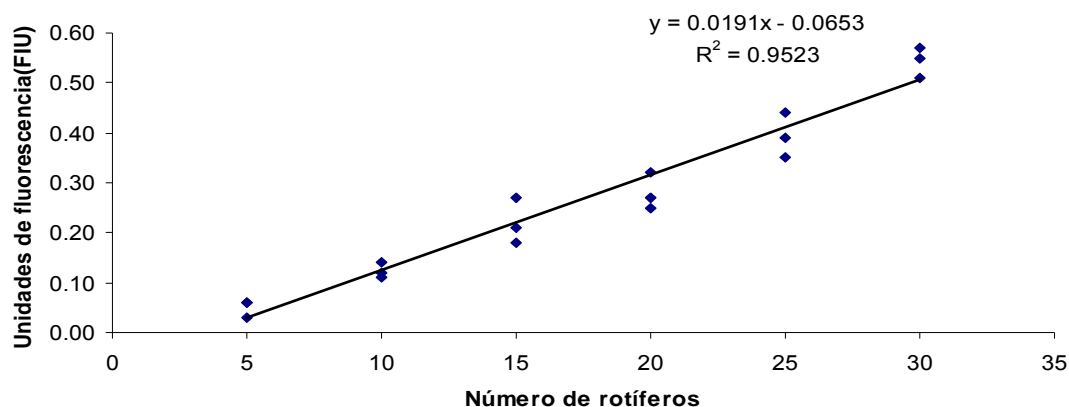


Figura 2.- Relación entre el número de rotíferos marcados con fluorocromos y las unidades de fluorescencia (FIU) emitidas por estos.

Para cuantificar la tasa de ingestión (consumo de alimento) se realizaron dos bioensayos. Estos bioensayos se realizaron durante la etapa en la cual las larvas fueron alimentadas con rotíferos, es decir, a partir del día 3 DDE hasta los 13 DDE. El primer ensayo consistió en evaluar la cantidad de presas consumidas por larva durante el periodo de alimentación entre los 3 hasta los 10 DDE y la proporción de larvas con presas en el intestino. Para todos los días de este ensayo se depositaron 30 larvas de cada tanque en recipientes de plástico con un volumen de 1 L. Estos recipientes se colocaron dentro del tanque de cultivo para mantener las mismas condiciones ambientales. Las larvas de los tratamientos con luz fueron alimentadas durante el periodo de luz según el protocolo descrito anteriormente, es decir, al tratamiento de 24L:0O se le permitió alimentarse durante 24 horas, para los tratamientos 14L:10O y 10L:14O se les permitió alimentarse por 14 horas y 10 horas, respectivamente. Por su parte al tratamiento 0L:24O se le permitió alimentarse durante 24 horas. Sin embargo, la mayoría de las larvas del tratamiento de 24 horas en oscuridad murieron al día 5 DDE. A las larvas utilizadas para cuantificar las tasas de ingestión se les suministró alimento al mismo tiempo que su respectivo tanque de cultivo. Se colectaron 45 larvas por

tratamiento. Para el tratamiento 24L:00 se tomaron muestras a las 8:00 del siguiente día. Para el tratamiento 14L:10 a las 21:00 del mismo día. Para el tratamiento 10L:14O a las 17:00 del mismo día y para el tratamiento 0L:24O a las 8:00 del siguiente día. Los tratamientos 24L:00 y 0L:24O se les permitió alimentarse con rotíferos marcados a partir del día 2 DDE, para después tomar la muestra 24 horas después, es decir a las 08:00 del día 3 DDE. Para los otros dos tratamientos se les alimento a las 08:00 del día 3 DDE y la toma de muestra fue el mismo día en el horario antes descrito.

Para el segundo bioensayo se seleccionaron los días 5, 9 y 13 DDE para medir las tasas de ingestión. En este ensayo se cuantificó el consumo de presas por larva en un periodo igual para todos los tratamientos (i.e., 6 horas de alimentación). Antes de iniciar el bioensayo, se dejó sin alimento a las larvas por un periodo de 6 horas. Para esto, a las 2:00 se seleccionaron de cada tanque de cultivo 30 larvas y se depositaron en recipientes de 1 L. A las 8:00 se les agregó alimento, y al mismo tiempo 30 larvas más fueron seleccionadas y depositadas en un segundo recipiente sin alimento. A las 14:00 se muestrearon las larvas alimentadas a las 8:00 y se le agregó alimento al segundo recipiente que contenía a las larvas en inanición. Al mismo tiempo 30 larvas más fueron depositadas en un tercer recipiente sin alimento. A las 20:00 se muestreo las larvas del segundo recipiente y se le agregó alimento a las larvas del tercer recipiente, seleccionando al mismo tiempo 30 larvas más que se depositaron en un cuarto recipiente sin alimento. Nuevamente, a las 2:00 se muestrearon las larvas del tercer recipiente y se agregó alimento a las larvas del cuarto recipiente, las cuales fueron muestreadas a las 8:00 de los días 6, 10 y 14 DDE respectivamente.

Para los dos ensayos, se cuantificó el número de larvas que contenían presas en el intestino en los tiempos antes descritos. Se agregó alimento a una densidad de 5 rotíferos/mL. Para el tratamiento bajo oscuridad continua (0L:24O) solo fue posible tomar muestras hasta el día 5 DDE, ya que la mayoría de las larvas habían muerto. Se tomaron 15 larvas por réplica para un total de 45 larvas por tratamiento. Las larvas fueron depositadas en tubos de ensayo de 12 X 75 mm, y

se agregó 1 mL de acetona antes de homogenizar las larvas. Las larvas fueron maceradas con el objetivo de liberar el pigmento que se encontraba dentro de los rotíferos que la larva había consumido. La acetona se utilizó como solvente del pigmento. Terminado esto se procedió a medir la fluorescencia por tubo de ensayo y con base a la regresión antes descrita se estimó el número de rotíferos por larva. Para medir la fluorescencia se utilizó un fluorómetro QuantechTM (Fluorometer, U.S.A) con filtros de emisión y excitación de 520 y 590 nm, respectivamente.

VII.8. Patrón de pigmentación

Para conocer el efecto del fotoperiodo en el patrón de pigmentación al final del desarrollo larval del lenguado de California se realizaron observaciones con un microscopio Olympus CKX41 (Japón) equipado con una cámara Olympus C5060 (Japón). Se utilizó la clasificación de los patrones de pigmentación para esta especie descrita por Vizcaíno-Ochoa *et al.*, 2010. Se utilizaron tres patrones de pigmentación: peces con pigmentación normal, peces pseudoalbinos y peces con manchas.

VII.9. Análisis estadístico

Para el crecimiento, supervivencia, tasa de ingestión y patrón de pigmentación se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la distribución normal y la prueba de Levene (Bartlett) para evaluar la homogeneidad de varianzas. Los valores expresados como porcentajes fueron transformados con la función arcoseno ($\arcsin(x/2)$). Después de realizar estas pruebas, se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un valor de $p < 0.05$ con el Software SPSS Versión 15. En aquellos casos en los que se observaron diferencias significativas, se realizó una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey (Zar, 1984).

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Crecimiento larvario de *Paralichthys californicus*

En la Tabla I, se reportan los valores de longitud estándar (LE) de las larvas durante el primer bioensayo. Al eclosionar las larvas tenían una longitud promedio de 2.13 ± 0.02 mm. Al comparar la longitud de las larvas expuestas a los cuatro fotoperiodos no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, para el día 1 y 2 DDE, se encontraron valores significativamente mayores para las larvas expuestas a los fotoperiodos de 24L:00, 14L:10O y 10L:14O con respecto a las larvas expuestas a 0L:24O (ver tabla 1). Para el día 3 DDE se encontraron tallas (2.80 ± 0.02 mm) significativamente mayores en las larvas expuestas a 24L:00 con respecto a los tratamientos 14L:10O y 10L:14O. Mientras que para este mismo día las larvas expuestas a 0L:24O presentaron tallas significativamente menores con respecto a los otros tres tratamientos. A los 4 DDE la longitud estándar era significativamente mayor en los tratamientos 24L:00 y 14L:10O con respecto al tratamiento de 10L:14O. Para el tratamiento 0L:24O la talla fue significativamente menor con respecto a los tres tratamientos. Para el día 5 DDE la mayoría de las larvas del tratamiento 0L:24O habían muerto, por tal motivo solo fue posible medir el crecimiento de las larvas hasta este día. Para los días 6 y 7 DDE se observa claramente que la talla de las larvas expuestas al tratamiento 24L:00 era significativamente mayor con respecto a los tratamientos 14L:10O y 10L:14O. Las larvas expuestas al fotoperiodo 24L:00 resultaron en tallas significativamente mayores al final de la metamorfosis, y las de los otros dos fotoperiodos (14L:10O y 10L:14O) no presentaron diferencias significativas entre ellas (Tabla I y Figura 3).

Tabla I.- Longitud estándar de larvas del lenguado de California, cultivadas bajo distintos fotoperiodos.

Día después de la eclosión	Fotoperiodo			
	24L:00	14L:10O	10L:14O	0L:24O
	Longitud estándar (mm)	Longitud estándar (mm)	Longitud estándar (mm)	Longitud estándar (mm)
0	2.12±0.02	2.14±0.02	2.15±0.01	2.12±0.03
1	2.58±0.00 ^a	2.59±0.01 ^a	2.59±0.01 ^a	2.37±0.02 ^b
2	2.62±0.00 ^a	2.64±0.01 ^a	2.62±0.02 ^a	2.41±0.01 ^b
3	2.80±0.02 ^a	2.74±0.00 ^b	2.70±0.01 ^b	2.39±0.01 ^c
4	3.05±0.02 ^a	3.04±0.01 ^a	2.82±0.01 ^b	2.47±0.03 ^c
5	3.10±0.02 ^a	3.03±0.01 ^b	2.98±0.01 ^c	2.60±0.02 ^d
6	3.18±0.01 ^a	3.14±0.00 ^b	3.13±0.01 ^b	
7	3.26±0.01 ^a	3.19±0.02 ^b	3.17±0.04 ^b	
8	3.54±0.02 ^a	3.35±0.00 ^b	3.25±0.06 ^c	
9	3.67±0.02 ^a	3.52±0.02 ^b	3.42±0.03 ^c	
10	3.77±0.03 ^a	3.68±0.03 ^b	3.55±0.00 ^c	
13	5.03±0.09 ^a	4.24±0.27 ^b	4.13±0.03 ^c	
17	6.12±0.02 ^a	4.68±0.19 ^b	4.74±0.10 ^b	
22	7.13±0.02 ^a	5.85±0.09 ^b	5.83±0.03 ^b	
28	9.13±0.02 ^a	7.12±0.03 ^b	7.11±0.2 ^b	
36	18.57±0.57 ^a	13.07±2.21 ^b	12.51±2.61 ^b	

Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media ± la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

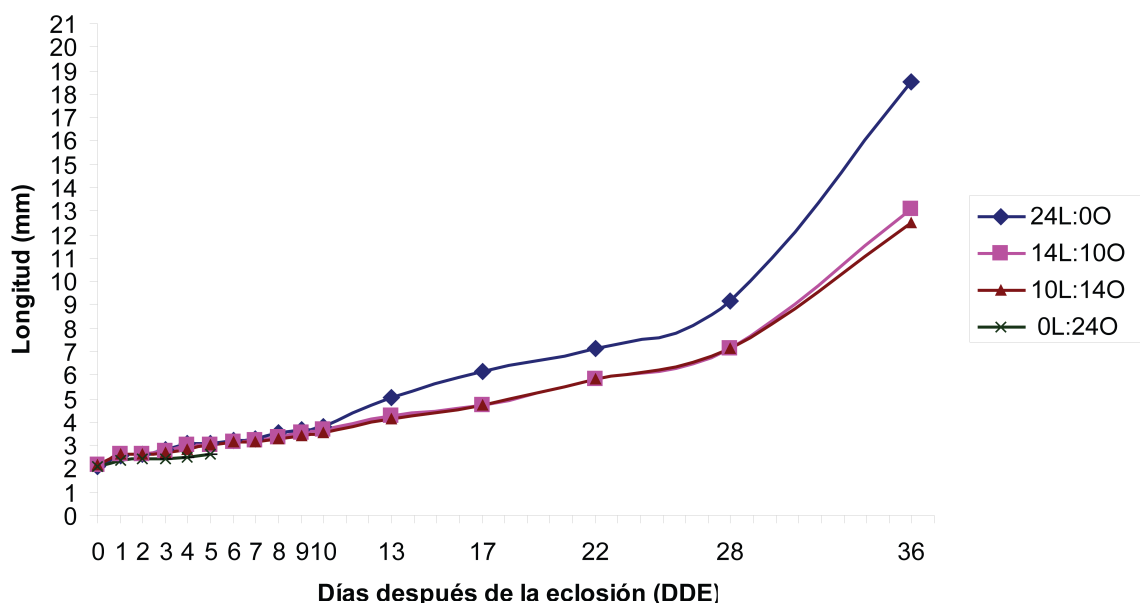


Figura 3.- Longitud estándar del lenguado de California desde el día 0 hasta el día 36 DDE. Los valores representan el promedio de cada tratamiento.

VIII.2. Tasa diaria de crecimiento instantáneo (TDCI)

En la tabla II se muestra los valores de TDCI en larvas expuestas a los tratamientos con fotoperiodos de 24L:0O, 14L:10O y 10L:14O. Para los días 0 al 10 DDE se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos, siendo significativamente mayor a medida que el periodo de luz incrementó, es decir 24L:0O presenta una TDCI de $5.93 \pm 0.07\%L \text{ día}^{-1}$, 14L:10O y 10L:14O presentan valores de $5.59 \pm 0.10\%L \text{ día}^{-1}$ y $5.13 \pm 0.05\%L \text{ día}^{-1}$, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en la TDCI para el periodo del día 10 al 22 DDE entre los tratamientos 24L:0O y 10L:14O, pero fueron significativamente mayores que el tratamiento 14L:10O. Se observó que para el periodo entre los días 22 al 36 DDE la TDCI fue significativamente mayor en el tratamiento 24L:0O comparada con los tratamientos 14L:10O y 10L:14O, y entre estos dos no se encontraron diferencias significativas (Tabla II).

Tabla II.- Tasa diaria de crecimiento instantáneo en el lenguado de California, antes y después de la metamorfosis.

Día después de la eclosión	Fotoperiodo		
	24L:0O	14L:10O	10L:14O
	TDCI (%L día ⁻¹)	TDCI (%L día ⁻¹)	TDCI (%L día ⁻¹)
0-10	5.93±0.07 ^a	5.59±0.10 ^b	5.13±0.05 ^c
10-22	3.92±0.03 ^a	3.60±0.06 ^b	3.88±0.05 ^a
22-36	6.97±0.11 ^a	5.45±0.43 ^b	5.03±0.53 ^b

Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media ± la desviación estándar., %L día, n=3 (Prueba de Anova, p<0.05).

VIII.3. Supervivencia de las larvas del lenguado de California

En la figura 4 se presentan los valores de supervivencia a los 13 y 36 DDE. En el tratamiento 14L:10O se observó el mayor porcentaje de supervivencia a los 13 DDE y a los 36 DDE, con valores de 80.80 ± 12.12 % y 18.93 ± 3.82 % respectivamente. Las larvas expuestas al tratamiento 0L:24O, presentaron 100% de mortalidad a los 6 DDE. Se encontraron valores significativamente mayores de supervivencia al final del experimento (36 DDE) en los tratamientos 14L:10O (18.93±3.82%) y 10L:14O (14.08±3.35%) comparado con el tratamiento 24L:0O (8.05±1.53%) (Figura 4).

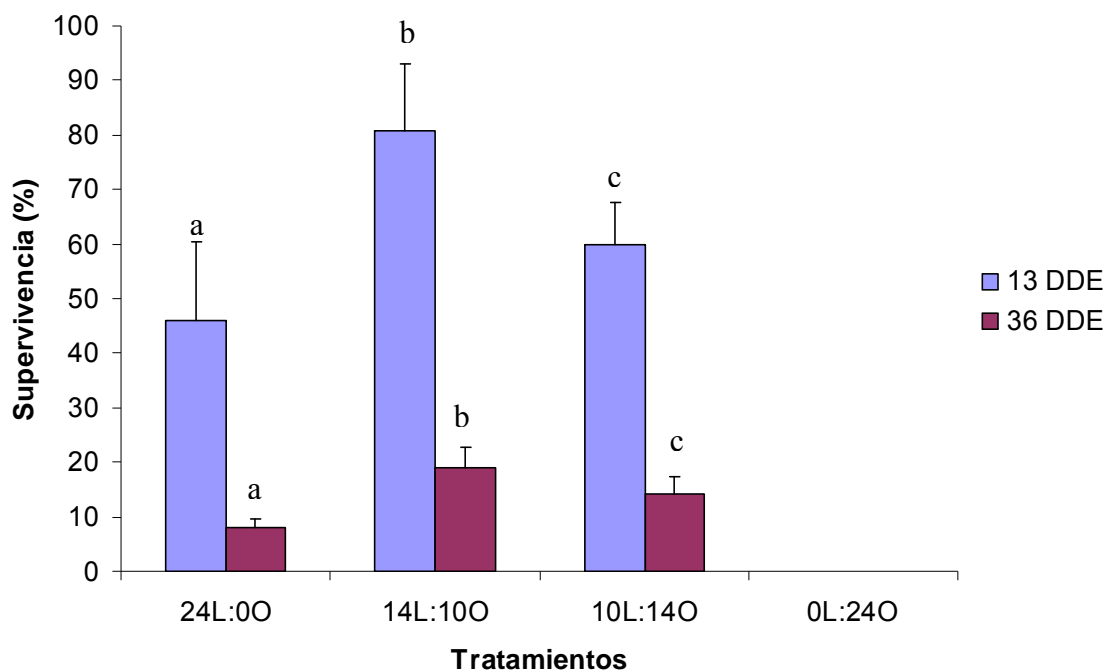


Figura 4.- Supervivencia del lenguado de California antes y después de la metamorfosis. Letras distintas indican diferencias significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

VIII.4. Tasa de ingestión en larvas de *Paralichthys californicus*

VIII.4.1. Primer Bioensayo

En la Figura 5, se observa claramente las microesferas fluorescentes en el intestino de las larvas de lenguado de California utilizadas para cuantificar la tasa de ingestión de las larvas. En la Figura 6 se reportan las tasas de ingestión de las larvas del lenguado de California para el primer bioensayo. Se encontró que para el día 3 y 4 DDE el consumo de rotíferos es similar entre los tratamientos 24L:00, 14L:100, 10L:140 pero significativamente mayores que el tratamiento 0L:240. Así mismo, se encontró que a partir del día 5 DDE y hasta el final de la metamorfosis, las larvas cultivadas bajo el tratamiento 24L:00 consumieron más alimento con respecto a los tratamientos 14L:100 y 10L:140. Sin embargo, a partir del día 5 DDE y hasta la metamorfosis no se encontraron diferencias significativas en las

tasas de ingestión de las larvas expuestas a los tratamientos 14L:10O y 10L:14O. Algo muy interesante es que las larvas cultivadas bajo el tratamiento 0L:24O, que aunque en total oscuridad, lograron ingerir algunos rotíferos. Sin embargo, estas mantuvieron una tasa de ingestión baja y no lograron sobrevivir después de los 5-6 DDE (Figura 6).

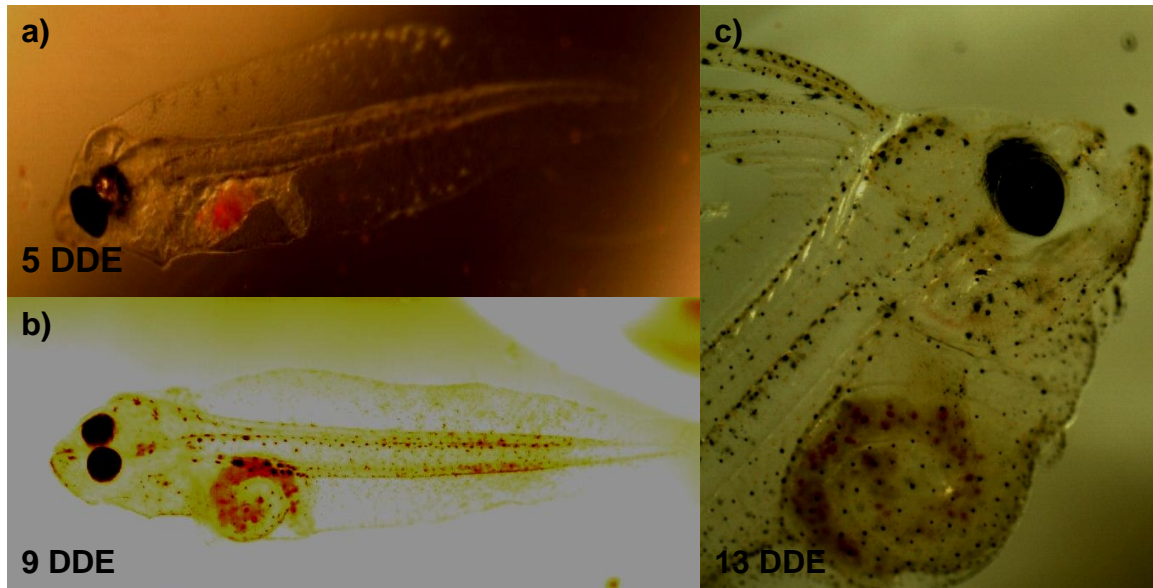


Figura 5.- Larvas del lenguado de California a los 5, 9 y 13 DDE. Se pueden observar claramente los rotíferos marcados con microesferas fluorescentes en el intestino de las larvas.

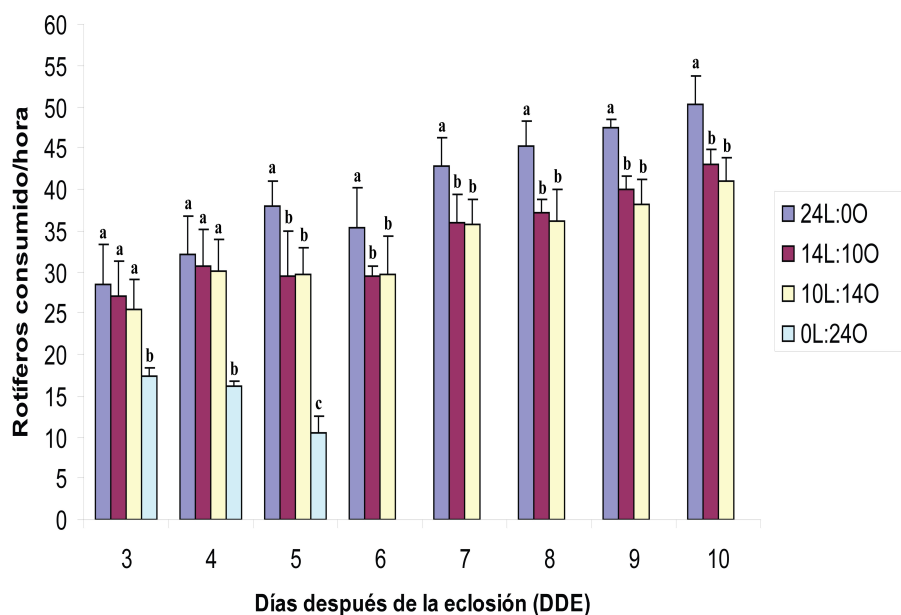


Figura 6.- Tasa de ingestión en larvas del lenguado de California del día 3 al 10 DDE. Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

VIII.4.2. Segundo Bioensayo

En la Figura 7 se reporta la tasa de ingestión de las larvas del lenguado de California para el segundo bioensayo. A los 5 DDE no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos en el consumo de rotíferos durante la mañana (8:00 a 14:00). Sin embargo, se encontró que el consumo de alimento aumenta en horas de la tarde (14:00 a 20:00), siendo significativamente mayor para el tratamiento 24L:00 que para los tratamientos 14L:100 y 10L:140. De manera sorprendente, no se logró cuantificar la presencia de rotíferos durante las primeras horas de la noche (20:00-02:00). Esto se confirmó bajo el microscopio ya que no se observaron rotíferos en el intestino y además no se detectó fluorescencia.

No obstante, durante el periodo (2:00 a 8:00) reinició el consumo de alimento para el tratamiento 24L:00 y la tasa de ingestión estimada fue similar a la encontrada

en la tarde (14:00 a 20:00) (Figura 7). Sin embargo, los tratamientos 14L:10O y 10L:14O siguieron sin consumir alimento ya que continuaban en total oscuridad. Aunado a esto se encontraron diferencias significativas entre los periodos de alimentación por tratamiento, siendo significativamente mayor en los periodos 14:00 a 20:00 comparado con el periodo 08:00 a 14:00, esto se observó en todos los tratamientos y en los tres días del bioensayo. No se encontraron diferencias significativas en la tasas de ingestión estimadas en los periodos 14:00 a 20:00 y 02:00 a 08:00 para el tratamiento 24L:0O.

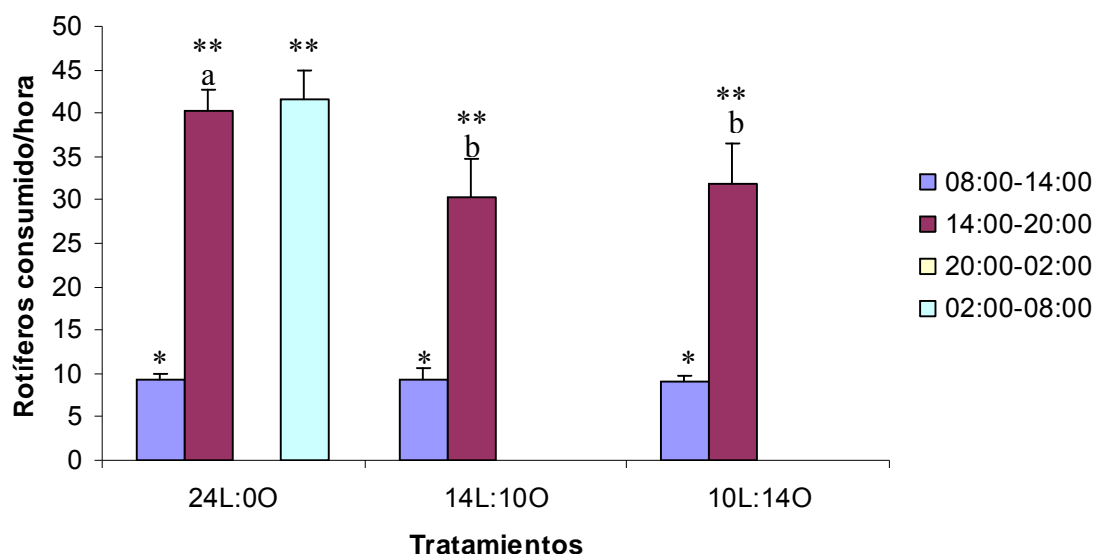


Figura 7.- Tasa de ingestión de las larvas del lenguado de California 5 DDE durante diferentes periodos del día. Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo periodo de alimentación. Número distinto de asteriscos indica diferencia significativa entre periodo de alimentación para un mismo tratamiento. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

En la Figura 8 se presentan las tasas de ingestión a los 9 DDE. Se observa que las larvas presentan el mismo comportamiento alimenticio que para el día 5 DDE. Sin embargo, a esta edad se observa que en horas de la tarde las larvas

cultivadas en 24L:0O consumen significativamente mayor número de rotíferos que el tratamiento 14L:10O y éstas a su vez mayor número de rotíferos que el tratamiento 10L:14O (Figura 8).

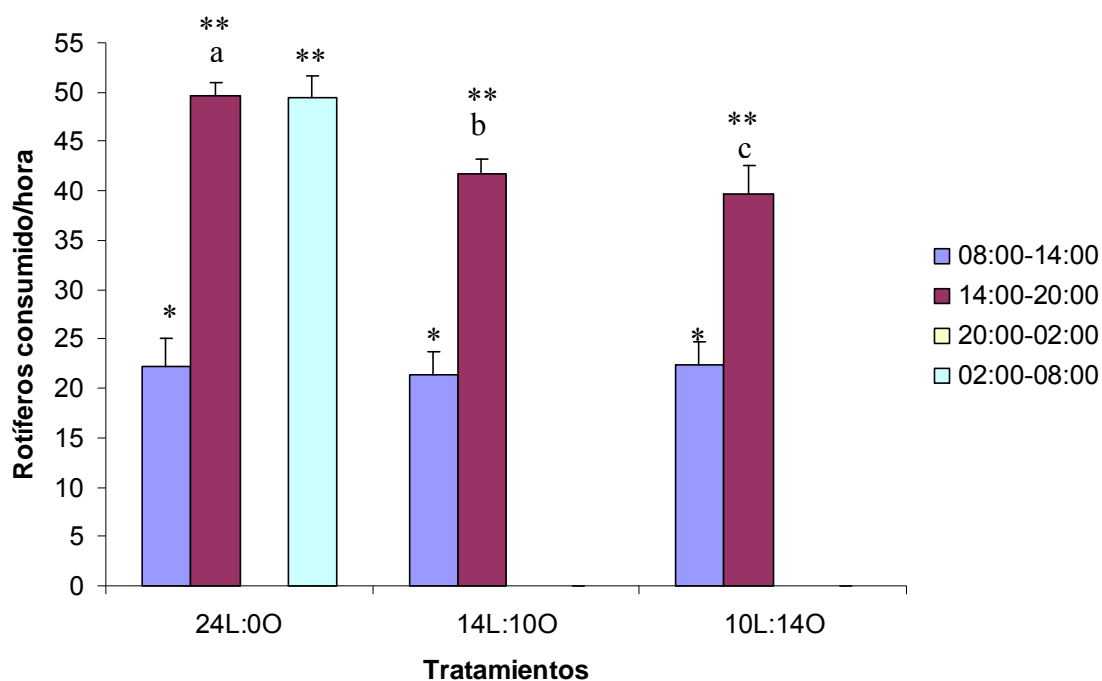


Figura 8.- Tasa de ingestión de las larvas del lenguado de California 9 DDE durante diferentes periodos del día. Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo periodo de alimentación. Número distinto de asteriscos indica diferencia significativa entre periodo de alimentación para un mismo tratamiento. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

En la Figura 9 se presentan las tasas de ingestión a los 13 DDE. Se observa que el consumo de rotíferos es significativamente mayor en el tratamiento 24L:0O en los horarios 08:00 a 14:00 y 14:00 a 20:00 con respecto a los tratamientos 14L:10O y 10L:14O. Los patrones observados en el consumo de alimento (rotíferos) es la misma a los observados en los bioensayos para los días 5 y 9 DDE.

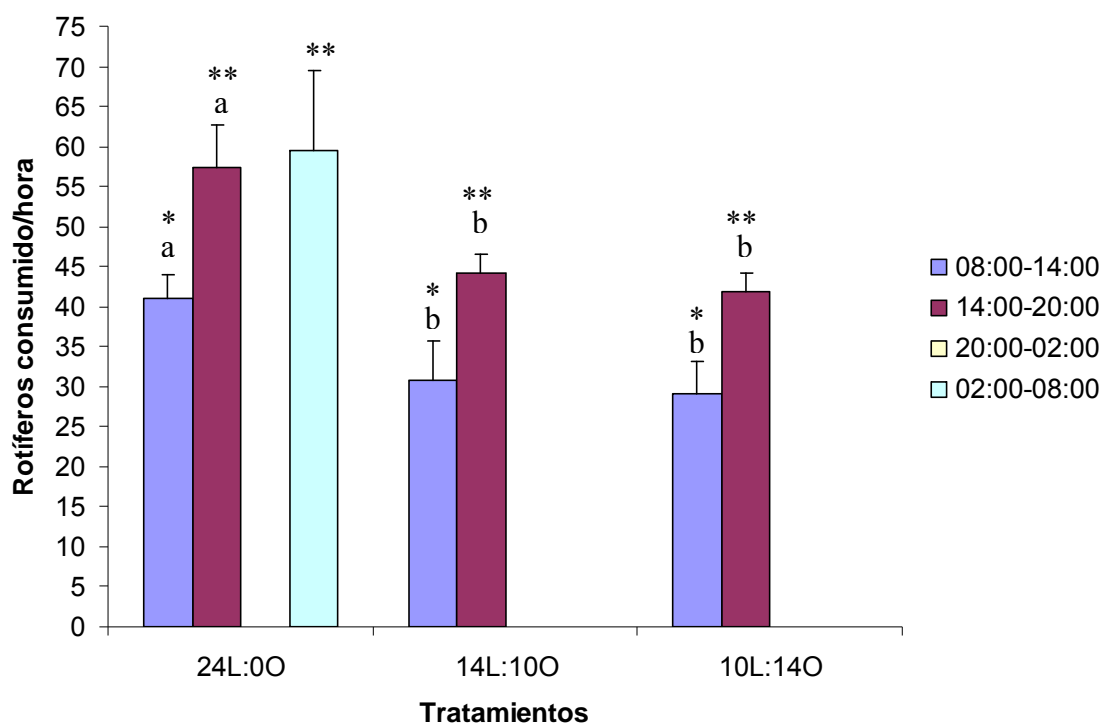


Figura 9.- Tasa de ingestión de las larvas del lenguado de California 13 DDE durante diferentes periodos del día. Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo periodo de alimentación. Número distinto de asteriscos indica diferencia significativa entre periodo de alimentación para un mismo tratamiento. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

VIII.4.3 Larvas del lenguado de California con presas en el estómago

En la tabla III se reporta el número de larvas que lograron capturar presas durante los primeros días de la alimentación exógena. El porcentaje de larvas con alimento en el estómago fue significativamente mayor en los tratamientos 24L:00, 14L:100 y 10L:140 con valores de $82 \pm 1.52\%$ que bajo el tratamiento 0L:240 el cual fue del $30 \pm 2.00\%$. Así mismo, se cuantificó que del día 3-4 DDE el porcentaje aumenta de un $82 \pm 1.52\%$ a $90 \pm 0.86\%$ en los tratamientos 24L:00, 14L:100 y 10L:140. Sin embargo, para el tratamiento 0L:240 el valor decrece de $30 \pm 2.00\%$ a $19 \pm 1.52\%$ para el día 3-4 DDE respectivamente. Para el día 5 DDE el valor encontrado en el tratamiento 24L:00 es significativamente mayor comparado con los tratamientos

14L:10O y 10L:14O. Para el tratamiento 0L:24O el porcentaje es significativamente menor comparado con los otros tratamientos (Tabla III).

Tabla III.- Larvas del lenguado de California que capturan presas, expresado en porcentaje.

Día después de la eclosión	Fotoperiodo			
	24L:0O	14L:10O	10L:14O	0L:24O
	Larvas con alimento (%)	Larvas con alimento (%)	Larvas con alimento (%)	Larvas con alimento (%)
3	83±1.00 ^a	81±1.52 ^a	82±1.52 ^a	30±2.00 ^b
4	93±1.00 ^a	91±0.58 ^a	87±1.00 ^a	19±1.52 ^b
5	96±0.58 ^a	89±0.57 ^b	87±1.00 ^b	8±0.57 ^c

Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media ± la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

VIII.5. Patrón de pigmentación del lenguado de California

En la Figura 10 se reporta el patrón de pigmentación en el lenguado de California a los 36 DDE. En el presente trabajo se caracterizaron los patrones de pigmentación en organismos en; a) pigmentación normal, b) pseudoalbinos y c) con manchas según Vizcaino *et al.*, 2010. Las larvas expuestas al fotoperiodo de 14L:10O resultaron en un porcentaje significativamente mayor de organismos con pigmentación normal, comparado con los otros tratamientos. El patrón de pigmentación de peces con manchas fue significativamente menor en los tratamientos 14L:10O y 10L:14O comparado con el tratamiento 24L:0O. Se encontró un valor significativamente menor de organismos pseudoalbinos bajo los tratamientos 24L:0O y 14L:10O que bajo el tratamiento 10L:14O. No se encontraron organismos con ambicoloración. El fotoperiodo de 14L:10O mejora el patrón de pigmentación normal del lenguado de California, así también se obtiene un bajo porcentaje de organismos con manchas y con pseudoalbinismo.

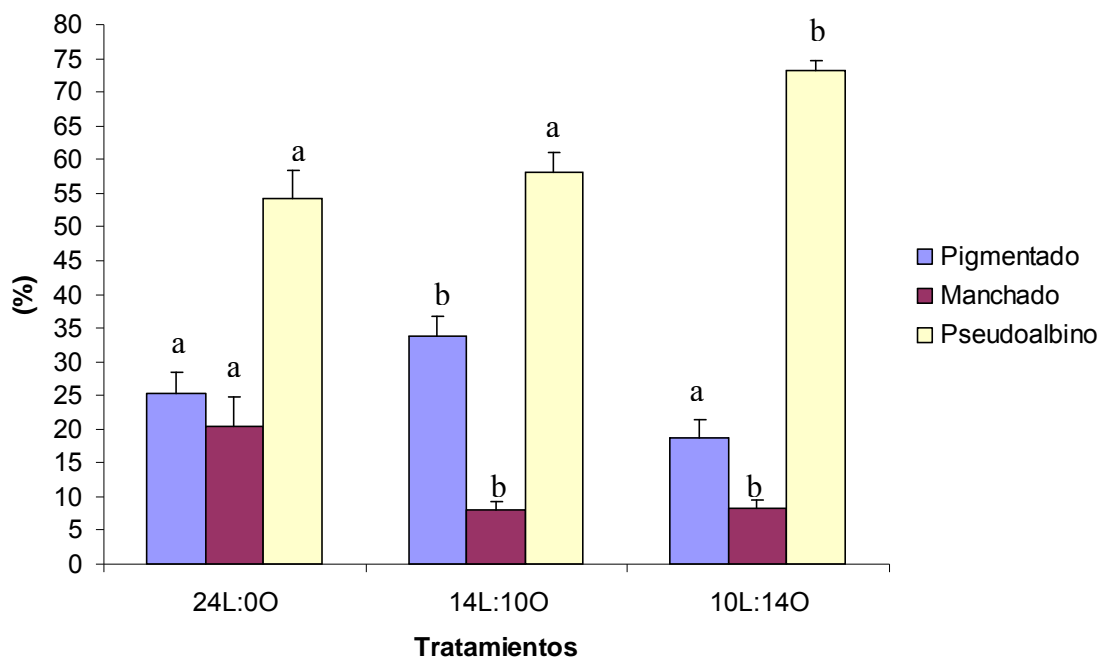


Figura 10.- Patrón de pigmentación del lenguado de California al final del experimento (36 DDE). Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos. Los datos están expresados por la media \pm la desviación estándar (Prueba de Anova, $p < 0.05$).

IX. DISCUSIÓN

IX.1. Crecimiento, supervivencia y tasa de ingestión de *Paralichthys californicus*

El fotoperiodo tuvo un efecto significativo sobre las tasas de ingestión, crecimiento y la supervivencia de las larvas del lenguado de California. El uso de un fotoperiodo extendido (24L:0O) incrementó el consumo de alimento durante el día y resultó en un mayor crecimiento. Sin embargo, se observó un efecto negativo ya que el uso de luz constante resultó en supervivencias menores y un mayor número de organismos con pigmentación anormal comparado con el uso de ciclos de luz-oscuridad (14L:10O y 10L:14O).

La longitud estándar de las larvas del lenguado de California fue significativamente mayor en el tratamiento de 24L:0O comparado con los tratamientos 14L:10O, 10L:14O y 0L:24O. Resultados similares fueron obtenidos en el lenguado japonés *Paralichthys olivaceus* por Dou y colaboradores en 2003. De manera similar algunos estudios con larvas de peces marinos reportan un mayor crecimiento cuando las larvas son expuestas a periodos prolongados de luz y que este es menor al disminuir los periodos de luz (Howell, *et al.*, 1998). Por ejemplo, en las especies *Miichthys miiuy* (Shan *et al.*, 2008), *Takifugu obscurus* (Shi *et al.*, 2010), *Dicentrarchus labrax* (Villamizar *et al.*, 2009), *Gadus morhua* (Puvanendran y Brown, 2002), *Latris lineata* (Trotter *et al.*, 2003) y en *Thunnus albacares* (Partridge *et al.*, 2011) se encontró un mayor crecimiento en fotoperiodos largos. En contraste, Cañavate *et al.*, (2006) reportan no haber encontrado diferencias significativas en crecimiento en larvas de *Solea senegalensis* utilizando fotoperiodos de 14L:10O, 10O:14L y 24L:0O. Igualmente, Fuchs (1978) y Tuckey y Smith (2001) no encontraron efecto del fotoperiodo en el crecimiento después de 54 días de cultivo en larvas de *S. solea* y *P. Lethostigma*, respectivamente. De acuerdo a lo reportado por Fielder *et al.*, (2002) y con otros trabajos de investigación en peces marinos antes mencionados y así también a lo encontrado en el presente estudio, el fotoperiodo óptimo depende específicamente de la especie.

En el presente estudio se observó que la incidencia de alimentación y la tasa de ingestión del lenguado de California incrementa con la edad de la larva desde el día 3 DDE hasta el final del experimento y fue siempre mayor en el tratamiento 24L:00 con respecto a los otros tratamientos. Este mayor consumo de alimento durante el experimento ayuda a explicar porque el crecimiento de las larvas fue mayor en el tratamiento 24L:00, ya que fotoperiodos continuos presumiblemente permiten periodos largos de alimentación, tal como es señalado por Kiyono y Hirano (1981) en el pargo negro (*Mylio macrocephalus*). Mientras que Dowd y Houde (1980) muestran que en la dorada del Atlántico (*Archosargus rhomboidalis*) la tasa de crecimiento específica de las larvas es mayor en un fotoperiodo de 13L:11O que en 24L:00, siempre y cuando la densidad de presa sea baja en los dos tratamientos. Es probable que este resultado se debe a que en densidades de presas bajas y en un fotoperiodo continuo el gasto de energía es mayor, debido a la acción de nadar en busca de alimento. Sin embargo en el presente estudio, la tasa diaria de crecimiento instantáneo fue mayor en fotoperiodos largos porque el alimento no fue una limitante por lo tanto es necesario mantener alimento disponible para las larvas si se utilizan fotoperiodos continuos.

En el presente estudio se alcanzaron tasas de crecimiento mayores que en otros estudio realizados en nuestro laboratorio ya que se observó en las larvas expuestas al fotoperiodo de 24L:00 una longitud estándar al final del experimento (36 DDE) de 18.57 mm. Este valor se obtuvo en menor tiempo comparado con otros estudios realizados para el lenguado de California. Por ejemplo, Martínez-Montaña (2007) obtuvo una longitud estándar promedio de 23.87 mm a los 51 DDE. Así mismo, Vizcaíno-Ochoa *et al.*, (2010) reporta que la longitud estándar promedio hasta el final del experimento (75 DDE) fue de 15.88 mm. Por su parte Zacarias-Zoto *et al.*, (2011) encontró que la longitud estándar al final del experimento (46 DDE) osciló entre 12 y 13 mm. Estas diferencias, probablemente se deben entre otros factores al diseño experimental, condiciones de cultivo y protocolo de alimentación utilizado en cada experimento. Por ejemplo en la mayoría de los estudios realizados anteriormente solo alimentaron dos veces por

día y las larvas se cultivaron a temperatura de 18 ± 0.5 °C. En el presente estudio se alimento tres veces por día y se mantuvo una temperatura de 21 ± 0.5 °C, lo cual en principio garantiza una mayor disponibilidad y consumo de alimento y un desarrollo mas acelerado que se refleja en una mayor tasa de crecimiento. Si lo que se pretende es reducir el tiempo de cultivo larvario de esta especie seria recomendable aumentar la disponibilidad de alimento y elevar la temperatura un poco.

Como se mencionó anteriormente, a primera instancia el factor más directo para explicar tallas mayores en fotoperiodos prolongados de luz sería el incremento en el consumo de alimento por tener un mayor tiempo de alimentación con luz. Sin embargo, aún está por elucidarse si se debe a una mejor eficiencia alimenticia o a una mayor tasa de ingestión entre otros factores (Boeuf y Le Bail, 1999). Por ejemplo, Barlow *et al.*, (1995) no encontraron diferencias en el crecimiento en larvas de *Lates calcalifer*, aun cuando las larvas expuestas a 24L:0O consumieron 40% más alimento que larvas expuestas a 12L:12O. Por su parte, Cañavate *et al.*, (2006) no encontraron diferencias en las tasas de ingestión en larvas de *S. senegalensis* bajo diferentes fotoperiodos y es probable que por esto el crecimiento fue similar para todos los tratamientos.

No obstante Biswas *et al.*, 2006 en el besugo *Pagrus major* encontraron que la tasa de ingestión es mayor en larvas cultivadas bajo luz continua, ya que según Blaxter (1968, 1969), la mayoría de las larvas de peces marinos son depredadores visuales y requieren de luz para alimentarse. La alimentación no suele ocurrir en plena oscuridad y las larvas cultivadas bajo estas condiciones mueren a los pocos días. En el presente estudio, aunque las larvas en plena oscuridad lograron capturar algo de alimento, la mayoría de las larvas mueren completamente en los primeros días de cultivo. En otro estudio similar se demostró que la alta mortalidad ocurrida en oscuridad continua es debido a la falta de nutrientes necesarios para desarrollarse adecuadamente, causado por no alimentarse lo suficiente, ya que las larvas de *Rhombosolea tapirina* murieron a los 8-10 DDE (Hart, 1994). Lo mas probable es que en el presente estudio la alta mortalidad observada en el

tratamiento 0L:24O, se deba al hecho de que bajo estas condiciones de luz las larvas no se alimentan adecuadamente.

Algo no esperado en el tratamiento 0L:24O, fue que aun en oscuridad total y continua, las larvas consumieron algo de alimento. Esto se puede deber a un fenómeno puramente azaroso y que las larvas ingirieran rotíferos por casualidad o a una capacidad del lenguado de California de capturar presas utilizando otros órganos sensoriales como el olfato ó receptores que perciben el movimiento del agua causado por las presas en movimiento. Sin embargo, el presente estudio no fue diseñado para estudiar y elucidar estos factores. Se sabe que existen factores externos como las condiciones de cultivo e internos que dependen de la fisiología de los organismos, que afectan la eficiencia de las larvas en la captura del alimento vivo ó formulado (Kolkovski *et al.*, 2009; Koven *et al.*, 2002). Por ejemplo, factores visuales como el color, tamaño, forma y movilidad del alimento son importantes para su detección y afectan a los procesos de búsqueda, identificación e ingestión del alimento. Así mismo, su detección depende de factores químicos en donde intervienen estímulos olfatorios a nivel molecular (Kolkovski *et al.*, 1997). Se cree que la respuesta alimentaria se estimula en parte por algunas sustancias químicas secretadas por el alimento vivo las cuales funcionan como “atractantes”.

Algo muy interesante, se observó en las larvas expuestas a 24 horas de luz, ya que presentaron un comportamiento rítmico de alimentación, en donde las larvas no se alimentaron en el periodo de las 20:00 a las 02:00, aunque hubiese luz. Estos resultados sugieren que las larvas del lenguado de California presentan un control endógeno en sus periodos de alimentación que aumenta en el horario de 14:00 a 20:00 y disminuye en las primeras horas del día desde las 08:00 a 14:00 reiniciándose seis horas después en el horario de 02:00 a 08:00. Es probable que esto se debe a un mecanismo de reloj endógeno que se desarrolla durante la ontogenia temprana de las larvas (Peirson *et al.*, 2009), aunque la visión parece ser el sentido principal que participa en la actividad de forrajeo y alimentación (Puvanendran y Brown, 2002). Se ha demostrado que fotorreceptores no

retinianos como el órgano pineal juegan un papel clave durante el desarrollo larvario (Ekström y Meissl, 1997). Los mecanismos por los cuales estas estructuras sensibles a la luz median señales de fotoperiodo y desencadenan procesos fisiológicos, todavía no es bien entendido en los peces. No obstante, se sabe que estímulos de luz percibida por la glándula pineal son transducidos a través de señales neuronales, en una señal hormonal por medio de la secreción rítmica de melatonina, la hormona que regula muchos procesos metabólicos rítmicos en el organismo y que ayuda a establecer un reloj endógeno (Amano *et al.*, 2003; Falcon *et al.*, 2010; Migaud *et al.*, 2010).

En el lenguado de California la supervivencia fue significativamente menor en las larvas expuestas a 0L:24O, que en los tratamientos 14L:10O, 10L:14O y 24L:0O. Esto se debe a que las larvas en periodos de oscuridad no consumen tanto alimento y por lo tanto mueren en pocos días. Por ejemplo en otras especies de peces marinos no planos, como el *Miichthys miiuy* (Shan *et al.*, 2008), *Takifugu obscurus* (Shi *et al.*, 2010) y *Dicentrarchus labrax* (Villamizar *et al.*, 2009) señalan que las larvas cultivadas en oscuridad continua mueren en etapas tempranas de desarrollo. En la presente investigación se encontró que el 99% de las larvas mueren al día 5 DDE, por no poder alimentarse. No obstante, al final del experimento el porcentaje de supervivencia fue significativamente mayor en 14L:10O y 10L:14O comparado con el tratamiento en 24L:0O. Una posible explicación de la baja supervivencia de las larvas expuestas a luz continua, puede estar relacionada con el efecto de la alta intensidad de la luz utilizada en el presente estudio que fue de 1900 lux. Aunque no se cuantificó con precisión la intensidad de luz en la columna de agua, por lo general los lenguados requieren poca luz en su medio ambiente de entre 600 y 1000 lux. Así mismo, Barahona-Fernandes (1979) encontró que existe una interacción entre la intensidad de la luz y el fotoperiodo, ya que luz continua en intensidades bajas durante las primeras semanas de cultivo resulta en una mejor supervivencia de las larvas de *Dicentrarchus labrax*.

Probablemente una alta intensidad de luz y un fotoperiodo continuo causan que la larva se encuentre activa por un mayor tiempo que las de fotoperiodos mas cortos y pase nadando en la búsqueda de alimento por mas tiempo, provocando que la larva tenga un gasto de energía alto que se refleja en baja supervivencia. Esto fue demostrado por Almazan-Rueda *et al.*, (2004) en el pez gato africano (*Clarias gariepinus*) donde observaron que las larvas expuestas a 24 horas de luz, se mantienen siempre activas en busca de alimento, provocando un gasto alto de energía que se refleja en baja supervivencia. En el presente estudio se observó que aunque las larvas consumen mayor cantidad de alimento expuestas a 24L:0O, no necesariamente resulta en una mayor supervivencia, ya que es probable que se necesiten ciclos de luz y oscuridad para asimilar adecuadamente los nutrientes ingeridos y que esto es controlado por la secreción rítmica de melatonina que afecta los procesos digestivos y de asimilación de nutrientes (García-Allegue *et al* 2001; Ekström y Meissl, 1997).

Adicionalmente, es probable que la luz continua provoque cierto estrés en los organismos y que se refleje en una baja supervivencia. Estudios con otras especies han demostrado que utilizar un fotoperiodo de luz continua causa estrés crónico, ya que los peces no logran redistribuir la energía adecuadamente hacia diferentes procesos metabólicos necesarios para establecer la homeostasis, como la respiración, locomoción, osmorregulación y la reparación de los tejidos, que se llevan a cabo eficientemente bajo ciclos naturales de luz y oscuridad (Barton, 1997; Wendelaar Bonga, 1997; Van Weerd y Komen, 1998; Barcellos *et al.*, 1999). Aunque también la baja supervivencia en el tratamiento 24L:0O podría deberse a daños ocasionados sobre mecanismos bioquímicos, fisiológicos, de comportamiento, neurales y procesos digestivos asociados a la secreción de melatonina al torrente sanguíneo por la glándula pineal controlados por ciclos de luz y oscuridad. (Takemura *et al.*, 2004; Kezuka *et al.*, 1988; García-Allegue *et al* 2001; Zachmann *et al.*, 1992; Bromage *et al.*, 2001; Kezuka *et al.*, 1989; Mårtensson *et al.*, 1996; Kulczykowska, 2002; Huether, 1994; Martin *et al.*, 1998; Bubenik *et al.*, 1996; Ekström y Meissl, 1997).

No obstante, algunos estudios realizados en otras especies de peces planos han demostrado que la supervivencia aumenta al incrementar el periodo de luz (Hart *et al.*, 1996; Solbaken y Pittman, 2004; Simensen *et al.*, 2000; Moustakas *et al.*, 2004; Vallone *et al.*, 2007). Sin embargo, (Fuchs, 1978) utilizando fotoperiodos de 24L:0O, 18L:6O y 12L:12O en *S. solea* no observó diferencias en la supervivencia después de 15 DDE, pero si antes. Esto sugiere que existen etapas en las cuales las larvas de los peces son más susceptibles al fotoperiodo.

IX.3 Patrón de pigmentación del lenguado de California.

En el presente estudio, se clasificó el patrón de pigmentación en tres categorías: peces bien pigmentados, con manchas y pseudoalbinos. El porcentaje de peces con pigmentación normal fue significativamente mayor en larvas expuestas a 14 horas de luz, con respecto a larvas expuestas a 24 y 10 horas de luz. El porcentaje de larvas con pigmentación normal en los tratamientos de 24, 14 y 10 horas de luz fue $25.39 \pm 2.99\%$, $33.80 \pm 2.81\%$ y $18.81 \pm 2.52\%$, respectivamente. Estos resultados son similares a lo encontrado por Vizcaíno-Ochoa *et al.*, (2010) para el lenguado de California, en donde evaluaron el efecto de los ácidos grasos altamente poliinsaturados (HUFAs), y aunque el fotoperiodo no fue una variable, se encontraron valores similares. En el presente estudio, el porcentaje mayor de peces pseudoalbinos encontrados fue de $73.23 \pm 1.53\%$, en el tratamiento de 10 horas de luz y el menor porcentaje fue en 24 horas de luz con $54.30 \pm 4.14\%$. Valores menores fueron reportados por Vizcaíno-Ochoa *et al.*, (2010) para la condición de albinismo en larvas del lenguado de California, por lo tanto se requiere utilizar dietas ricas en ácidos grasos para mejorar el patrón de pigmentación normal en el lenguado de California y es probable que utilizar un fotoperiodo de 14 horas de luz, pueda mejorar aun más el patrón de pigmentación normal en el lenguado de California, sin embargo utilizando esta misma vía de alimentación y fotoperiodo, todavía se presentan altos porcentajes de pseudoalbinismo.

El mayor porcentaje de peces con manchas fue de $20.31 \pm 4.41\%$ encontrado en el tratamiento de 24 horas de luz, y el menor porcentaje fue de $8.33 \pm 2.12\%$ y fue encontrado en el tratamiento de 14 horas de luz. Los valores reportados por Vizcaíno-Ochoa *et al.*, (2010) para esta condición son altos y disminuyen a medida que baja el nivel de ácidos grasos altamente poliinsaturados en la dieta, en el presente estudio el valor de organismos con manchas disminuye a medida que disminuye el periodo de luz, lo cual podría estar asociado a condiciones de estrés, provocados por factores ambientales y nutricionales. De las explicaciones más aceptadas sobre el problema de malpigmentación está la deficiencia de ácidos grasos en el alimento vivo durante las etapas tempranas de los peces (Seikai *et al.* 1987). Particularmente Matsumoto y Seikai (1992) propusieron que las anomalías en la pigmentación son el resultado de un bloqueo en la diferenciación de las células germinales que dan origen a las células pigmentarias en la formación de los melanóforos adultos.

Por su parte Kanasawa (1993) sugiere que los peces mal pigmentados en el lenguado japonés tienen deteriorado el sistema visual, por lo que no logran alimentarse adecuadamente, lo que resulta en deficiencias nutricionales que se reflejan a su vez en una baja supervivencia. Adicionalmente, los fotorreceptores de la glándula pineal que se forman antes del desarrollo de los fotorreceptores retinianos dependen de ciclos de luz y oscuridad y son importantes en el establecimiento de las conexiones nerviosas en el cerebro entre la glándula pineal y el sistema visual (Wilson y Easter, 1991). Esto podría afectar la producción de la hormona estimuladora de la melanina (MSH, por sus siglas en inglés), la cual es necesaria para la síntesis de melanina y la movilización del pigmento dentro de la célula. Kanasawa (1993) observó que al alimentar al lenguado japonés con dietas formuladas con niveles suficientes de fosfolípidos, vitamina A y DHA, estimula el desarrollo de la pigmentación normal. De acuerdo con estos estudios el problema de malpigmentación en peces se debe fuertemente a deficiencias nutricionales, sin embargo se deben considerar mecanismos endócrinos que son afectados por la glándula pineal la cual juega un papel en los ritmos circadianos endógenos que

son controlados por el fotoperiodo y que pueden influir en el crecimiento, metabolismo y en el sistema endócrino (i.e., en la producción de melanina) a principios de la ontogenia (Ekström y Meissl, 1997).

Varias investigaciones han demostrado que muchos organismos, incluidos los peces pueden cambiar de color a lo largo del día. Estos cambios de color responden de acuerdo a la luz incidente sobre la piel del organismo (Rollag, 1988). Esta respuesta depende de la percepción de la luz por los ojos o por la glándula pineal que desencadena la liberación de hormonas o neurotransmisores (Hadley, 1988). Vertebrados inferiores entre ellos los peces, pueden exhibir un ritmo circadiano en el cambio de color (Binkley, 1988), usualmente relacionado con la movilización y secreción de melatonina. De hecho la melatonina fue aislada en 1958 y nombrada la hormona que aclara los melanocitos, células responsables de la pigmentación de la piel (Lerner *et al.*, 1958). Se cree que la glándula pineal es un órgano del sistema endócrino que controla los ritmos en el cambio de color de vertebrados poiquilotermos (Caliman-Filadelfi y De Lauro-Castruci, 1996). De acuerdo con estos estudios podemos inferir que existe un efecto del fotoperiodo sobre el patrón de pigmentación en el lenguado de California y que esta especie necesita periodos de luz y oscuridad para un desarrollo óptimo de las células pigmentarias después de la metamorfosis tanto en su diferenciación como en la síntesis y liberación de melanina. Sin embargo se ha observado que en el lenguado de California a diferencia de otras especies de peces planos, el patrón de pigmentación no queda establecido totalmente después de la metamorfosis, sino que puede continuar desarrollandose aun después de esta etapa (Vizcaíno-Ochoa *et al.*, 2010).

X. CONCLUSIONES

Las larvas expuestas a un fotoperiodo largo de 24L:0O, crecen más rápido que larvas expuestas a fotoperiodos cortos de 14L:10O y 10L:14O, debido a un mayor consumo de alimento vivo durante las horas con luz.

La supervivencia de las larvas del lenguado de California es mayor bajo un fotoperiodo de luz-oscuridad 14L:10O y 10L:14O comparado con larvas expuestas a un fotoperiodo largo (24L:0O) al final del experimento.

Las larvas cultivadas en un fotoperiodo de oscuridad continua (O horas de luz) presentan un crecimiento pobre y una mortalidad total en los primeros días después de la eclosión (6 DDE), asociado a una limitada capacidad para consumir alimento bajo estas condiciones.

Con un fotoperiodo de 24 horas de luz, el consumo de alimento es mayor debido a que bajo estas condiciones tienen más tiempo para alimentarse que aquellas que están bajo un fotoperiodo mas corto o en oscuridad continua.

Existe un patrón muy marcado en el comportamiento alimenticio de las larvas del lenguado de California aún expuestas a un fotoperiodo continuo (24L:0O).

En los primeros días después de la eclosión la cantidad de horas luz influye en el éxito de captura de presas ya que fue mayor en condiciones de luz continua (24L:0O) comparadas con larvas expuestas a fotoperiodos mas cortos (14L:10O, 10L:14O y 0L:24O) y puede ejercer una ventaja importante en la ganancia en longitud en menor tiempo.

Exposiciones a fotoperiodos controlados de luz 14L:10O y 10L:14O mejora significativamente el patrón de pigmentación normal en las larvas del lenguado de California que expuestas a luz continua (24 horas de luz).

XI. LITERATURA CITADA

Almazan-Rueda, P., Schrama, J.W y Verreth, A.J. 2004. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*. 231: 347-359.

Amano, M., Iigo, M., Ikuta, K., Kitamura, S y Yamamori, K., 2003. Characterization and maturational differences of melatonin binding sites in the masu salmon brain. *Gen. Comp. Endocrinol.* 131: 338-344.

Barahona-Fernandes, M.H. 1979. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax* (L.) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. *Aquaculture*. 17: 311-321.

Barcellos, L.J.G., Nicolaiewsky, S., de Souza, S.M.G y Lulhier, F. 1999. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) previously exposed to chronic stress. *Aquac. Res.* 30, 437-444.

Barlow, C.G., Pearce, M.G., Rodgers, L.J y Clayton, P. 1995. Effects of photoperiod, growth, survival and feeding periodicity of larval and juvenile barramundi *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture*. 138: 159-168.

Barnabe, G. 1990. Rearing bass and gilthead bream. In: Barnabe, G. (Ed.), *Aquaculture*, vol. 2. Ellis Horwood, New York. 686 p.

Barton, B.A. 1997. Stress in finfish: past, present and future a historical perspective. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture. Seminar Series-Society for Experimental Biology*, vol. 62. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 33 p.

Battaglione, S.C. 1995. Induced ovulation and larval rearing of Australian marine fish. PhD Thesis. University of Tasmania, Launceston, Tasmania.

Binkley, S. 1988. *The Pineal: Endocrine and nonendocrine function*. Prentice Hall, Englewood Cliffs. 304 p.

Biswas, A.M., Seoka, M., Tanaka, Y., Takii, K y Kumai, H. 2006. Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*. 258: 350-356.

Blaxter, J.H.S., 1968. Visual thresholds and spectral sensitivity of herring larvae. *J. Exp. Biol.* 48: 39-53.

Blaxter, J.H.S., 1969. Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. *J. Exp. Biol.* 51: 221-230.

- Blaxter, J.H.S. 1980. Vision and feeding of fishes. In: Bardach, J.E., Magnuson, J.J., May, R.C., Reinhart, J.M. (Eds.), Fish Behaviour and Its Use in the Capture and Culture of Fishes. ICLARM Conference Proceedings 5, Manila, Philippines, 32-56.
- Boeuf, G y Le Bail, P.Y. 1999. Does light have an influence on fish growth? Aquaculture. 177: 129-152.
- Bolker, J. A y Hill, C. R. 2000. Pigmentation Development in Hatchery-reared Flatfishes. J. Fish Biol. 56: 1029-1052.
- Britt, L. L., Loew R. E y McFarland, N. W. 2001. Visual Pigments in the Early Life Stages of Pacific Northwest Marine Fishes. J. Exp. Biol. 204: 2581-2587.
- Bubenik, GA., Pang, S.F y Hacker RR. 1996. Melatonin concentrations in serum and tissues of porcine gastrointestinal tract and their relationship to the intake and passage of food. J Pineal Res; 21:251-256.
- Bromage, N., Porter, M y Randall, C. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. Aquaculture. 197: 63-98.
- Caliman-Filadelfi, A.M y De Lauro-Castruci, A.M. 1996. Comparative aspects of the pineal/melatonin system of poikilothermic vertebrates. Journal Pineal Research. 20: 175-186.
- Canino, M. F y Bailey, K. M. 1995. Gut evacuation of walleye pollock larvae in response to feeding conditions. Journal of Fish Biology. 46: 389-403.
- Cañavate, J.P., Zerolo, R y Díaz, F.C. 2006. Feeding and development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae reared in different photoperiods. Aquaculture. 258: 368-377.
- Chatain, B y Ounais-Guschmann, N. 1991. The relationships between light and larvae of *Sparus aurata*. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. (Eds.), Larvi '91-Fish and Crustacean Larviculture Symposium, Gent, Belgium. Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc. European Aquaculture Society, Special Publication 15, Gent, vol. 15, pp. 310-313.
- Clark, G.H. 1931. The California halibut (*Paralichthys californicus*) and an analysis of the boat catches. California . Dep. Fish Game fish Bull . 32: 1-52.

Conklin, E. D., Piedrahita, H. R., Merino, E. G., Muguet, Jean-Benoit., Bush, E. D., Gisbert, E., Rounds, J y Trujano-Cervantes, M. 2003. Development of California Halibut, *Paralichthys californicus*, Culture. Journal of Applied Aquaculture. 14: 143-154.

Daniels, H.V., Berlinsky, D.L., Hodson, R.G y Sullivan, C.V. 1996. Effects of stocking density, salinity, and light intensity on growth and survival of Southern flounder *Paralichthys lethostigma* larvae. J. World Aquacult. Soc. 27: 153-159.

Denson, M.R y Smith, T.I.J. 1997. Diet and light intensity effects on survival, growth and pigmentation of Southern flounder *Paralichthys lethostigma*. J. World Aquacult. Soc. 28: 366-371.

Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M y Tsukamoto, K. 2003. Identification of factor affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. 218: 309-327.

Dowd, C.E y Houde, E.D., 1980. Combined effects of prey concentration and photoperiod on survival and growth of larval sea bream, *Archosargus rhomboidalis* (Sparidae). Mar. Ecol. Prog., Ser. 3: 181-185.

Duray, M y Kohno, H. 1988. Effects of continuous lighting on growth and survival of first-feeding larval rabbitfish, *Siganus guttatus*. Aquaculture. 72: 73-79.

Ekström, P y Meissl, H., 1997. The pineal organ of teleost fishes. Rev. Fish Biol. Fish. 7: 199-284.

Falcon, J., Migaud, H., Munoz-Cueto, J.A y Carrillo, M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. Gen. Comp. Endocrinol. 165: 469-482.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Rome, 2010. Fishery and Aquaculture Statistics 2008. Anuario. 1-100 p.

Fielder, D.S., Bardsley, W.J., Allan, G.L y Pankhurst, P.M. 2002. Effect of Photoperiod on Growth and Survival of snapper *Pagrus auratus* Larvae. Aquaculture. 211: 135-150.

Fischer, W., Krup, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E y Nhiem, V.H. 1995. *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental*. Vol. III. Vertebrados (2). Roma, FAO. 1201-1813 p.

Fisheries Review. 2010. Review of Selected California Fisheries for 2009: Coastal Pelagic Finfish, Market Squid, Red Abalone, Dungeness Crab, Pacific Herring, Groundfish/Nearshore Live-Fish, Highly Migratory Species, Kelp, California Halibut, and Sandbasses. California Department of Fish and Game. Vol. 51. 38 p.

- Frey, H.W. 1971. California's living marine resources and their utilization. California Department Fish Game, Sacramento. 148 p.
- Fuchs, J. 1978. Effect of photoperiod on growth and survival during rearing of larvae and juveniles of sole (*Solea solea*). *Aquaculture*. 15: 63-74.
- García-Allegue R., Madrid, JA y Sánchez-Vázquez, F.J. 2001. Melatonin rhythms in European sea bass plasma and eye. Influence of seasonal photoperiod and water temperature. *J Pineal Res.* 31: 68-75.
- Ginsburg, I. 1952. Flounders of the genus *Paralichthys* and related genera in American waters. *U.S. Fish Wildl. Serv. Fish. Bull.* 71: 267-351.
- Gisbert, E., Piedrahita, R.H y Conklin, D.E. 2004. Ontogenic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture*. 232: 455-470.
- Gisbert, E., Merino, G., Muguet, J.B., Bush, D., Piedrahita, R.H y Conklin, D.E. 2002. Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. *Journal of Fish Biology*. 61: 1217-1229.
- Gruber, H.S., Loew, R.E., y McFarland. 1991. Rod and Cone Pigments of the Atlantic Guitarfish, *Rhinobatos lentiginosus* Garman. *J. Exp. Zool., Suppl.* 5: 85-87.
- Haaker, P.L. 1975. The biology of the California halibut, *Paralichthys Californicus* (Ayres), in Anaheim Bay, California. Pages 137-151 in E.D. Lane and C.W. Hills, eds. TG marine resources of Anaheim Bay. Calif. Dep. Fish Game Fish. Bull. 165 p.
- Hadley, M.E. 1988. Endocrinology. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 2nd edition. 549 p.
- Harboe, T., Mangor-Jensen, A., Moren, M., Hamre, K y Rønnestad, I. 2009. Control of light condition affects the feeding regime and enables successful eye migration in Atlantic halibut juveniles. *Aquaculture*. 290: 250-255.
- Hardy, R. W y Barrows, F.T. 2002. Diet formulation and manufacture. In: Fish Nutrition (J.E. Halver and R.W. Hardy Eds.). Academic Press, San Diego, USA. 588 p.
- Hart, P.R. 1994. Factors affecting the early life stages of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Giinther, 1862). Ph.D. Thesis. University of Tasmania, Launceston, 231 p.

- Hart, P.R., Hutchinson, W.G., Purser, G.J. 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günter, 1862). *Aquaculture*. 144: 303-311.
- Houde, E.D. 1971. Developmental abnormalities of the flatfish *Achirus lineatus* reared in the laboratory. *Fisheries Bulletin*. 69: 537-544.
- Howell, B.R., Day, O.J., Ellis, T y Baynes, S.M. 1998. Early life stages of farmed fish. In: Black, C.M., Pickering, A.D. (Eds.), *Biology of Farmed Fish*. Sheffield Academic Press. 27-66 p.
- Htun-Han, H. 1977. The effects of photoperiod on reproduction in fishes. An annotated bibliography. MAAF Directorate of Fisheries Research, Library Information Leaflet, 6: 30 p.
- Huber, M., Moore, E., Marcaccio, N., Katersky, R y Bengtson, D. 1999. Effects of photoperiod on survival, growth and pigmentation of summer flounder (*Paralichthys dentatus*) larvae in laboratory culture. *Journal of Shellfish Research*. 18: 268.
- Huether G. 1994. Melatonin synthesis in the gastrointestinal tract and the impact of nutritional factors on circulating melatonin. In: *The Aging Clock. The Pineal Gland and Other Pacemakers in the Progression of Aging and Carcinogenesis*. Pierpaoli W, Regelson W, Fabris N eds., The New York Academy of Sciences, New York. 146-158 p.
- Innis, D.B. 1980. Growth characteristics and temperature reference behavior of juvenile California halibut, *Paralichthys californicus*, and their relationship to the effects of thermal effluent. Master's Thesis. San Diego State University, Calif. 110 p.
- Jones y Stokes, Inc. 1981. An ecological characterization of the central and northern California coastal region. U.S. Fish Wildl. Serv. FWS/OBS-80147.1, Vol. 111 Part I.
- Kanazawa, A. 1993. Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery-reared flatfish. *Journal of World Aquaculture Society*. 24: 162-166.
- Karlsen, Ø., Skiftesvik, B.A y Helvik, V.J. 1998. The effect of light on activity and growth of Atlantic halibut, *Hippoglossus Hippoglossus* L. *Aquaculture Research*. 29: 899-911.
- Kezuka, H., Furukawa, K y Aida, K. 1988. Daily cycles in plasma melatonin levels under long and short photoperiod in the common carp, *Cyprinus carpio*. *Gen Comp Endocrinol*. 72: 296-302.

- Kezuka, H., Aida, K y Hanyu, I. 1989. Melatonin secretion from goldfish pineal gland in organ culture. *Gen Comp Endocrinol.* 75: 217-221.
- Kiyono, M y Hirano, R. 1981. Effects of light on the feeding and growth of black porgy, *Mylio macrocephalus* (Basilewsky), postlarvae and juveniles. The early life history of fish. *Rapp. P.-V. R&n. Cons. Int. Explor. Mer.* 178: 334-336.
- Kolkovsky, S., Koven, W y Tandler, A. 1997. The model of action of *Artemia* in enhancing utilization of microdiet by gilthead sea bream *Sparus auratus* larva. *Aquaculture.* 155: 193-205.
- Kolkovski, S., Lazo, J.P., Leclercq, D y Izquierdo, M. 2009. Marine fish larval nutrition and diets: new developments. Review (en prensa).
- Koven, W., Rojas-García, C.R., Finn, R.N., Tandler, A y Rønnestad, I. 2002. Stimulatory effect of ingested protein and/or free amino acids on the secretion of the gastro-endocrine hormone cholecystokinin and on tryptic activity, in early feeding herring larvae, *Clupea harengus*. *Marine Biology.* 140: 1241-1247.
- Kucas, S.T y Hassler, T.J. 1986. "Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (Pacific Southwest). California Halibut. U.S. Fish Wildl. Serv. Biological Report. 82 (11.44). U.S. Army Corps of Engineers. 82: 4-8.
- Kulczykowska, E. 2002. A review of the multifunctional hormone melatonin and a new hypothesis involving osmoregulation. *Rev Fish Biol Fisher.* 11: 321-330.
- Lazo, J.P y Barón, B. 2004. Desarrollo del cultivo de lenguado de California, *Paralichthys californicus*. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (C.I.C.E.S.E). 1 p.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H y Mori W. 1958. Isolation of melatonin, the pineal factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. SOC.* 80:2587.
- Madon, S.P. 2002. "Ecophysiology of juvenile California halibut *Paralichthys californicus* in relation to body size, water temperature and salinity" *Mar Ecol Prog Ser.* 243: 235-249.
- Mårtensson, L.G.E y Andersson, R.G.G. 1996. A melatonin binding site modulates the α 2-adrenoceptor. *Life Sci.* 58: 525-533.
- Markle, D.F., Harris, P.M y Toole, C.L. 1992. Metamorphosis and an overview of early-life-history stages in dover sole *Microstomus pacificus*. *Fishery Bulletin.* 90: 285-301.

- Martínez-Montaño, E. 2007. Digestibilidad proteica en el lenguado de California (*Paralichthys californicus*): Ontogénesis y comparación de dos métodos de evaluación in vitro. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 110 p.
- Martin, M.T., Azpiroz, F y Malagelada, J.R. 1998. Melatonin in the gastrointestinal tract. *Thérapie*. 53: 453-458.
- Matsumoto, J y Seikai, T. 1992. Asymmetric pigmentation and pigment disorders in Pleuronectiformes (flounders). *Pigment Cell Research. Supplement*. 2: 275-282.
- McEvoy, L.A., Naess, T., Bell, J.G y Lie, Ø. 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched Artemia: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*. 163: 237-250.
- McFarland, W.S., y Munz, F.W. 1975. The Evolution of Photopic Visual Pigments in Fishes. *Vision Res*. 15: 1071-1080.
- Migaud, H., Davie, A y Taylor, J.F.T. 2010. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *J. Fish Biol*. 76: 27-68.
- Moustakas, C.T.H., Watanabe, W.O y Copeland, K.A. 2004. Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *Aquaculture*. 229: 159-179.
- Munz, F. W y McFarland, W. S. 1975. Presumptive Cone Pigments Extracted from Tropical Marine Fishes. *Vision Res*. 15: 1045-1062.
- Partidge, G. J., Benetti, D. D., Stieglitz J. D., Hutapea, J., McIntyre, A., Chen, B., Hutchinson, W y Scholey, V. P. 2011. The effect of a 24-hour photoperiod on the survival, growth and swim bladder inflation of pre-flexion yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) larvae. *Aquaculture*. 318: 471-474.
- Piedrahita, R y Conklin, D. 2004. Development of Halibut Aquaculture. Sea Grant. University of California, Davis. 2 p.
- Peirson, S.N., Halford, S y Foster, R.G. 2009. The evolution of irradiance detection: melanopsin and the non-visual opsins. *Philos. Trans. R. Soc*. 364: 2849-2865.

Pittman, K., Jelmert, A., Næss, T., Harboe, T y Watanabe, K. 1998. Plasticity of viable postmetamorphic forms of farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture Research*. 29: 949-954.

Plummer, K.M., DeMartini, E.E y Roberts, D.A. 1983. The feeding habits and distribution of juvenile small adult California halibut (*Paralichthis californicus*) in the northern San Diego County, Calif. *Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 24: 194-201.

Puvanendran, V y Brown, A.J. 2002. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. *Aquaculture*. 214: 131-151.

Ronzani Cerqueira, V y Chatain, B. 1991. Photoperiodic effects on the growth and feeding rhythm of European seabass, *Dicentrarchus labrax*, larvae in intensive rearing. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. (Eds.), *Larvi '91—Fish and Crustacean Larviculture Symposium*, Gent, Belgium. *Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc. European Aquaculture Society, Special Publication 15*, Gent, vol. 15. 304-306 p.

Rollag, D. 1988. Response of amphibian melanophores to melatonin. *Pineal Res. Rev.* 6: 67-93.

Seikai, T., Matsumoto, J., Shimozaki, M., Oikawa, A y Akiyama, T. 1987. An association of melanophores appearing at metamorphosis as vehicles of asymmetric skin color formation with pigment anomalies developed under hatchery conditions in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Pigment Cell Research*. 1: 143-151.

Shan, X.J., Xiao, Z., Huang, W y Dou, S. 2008. Effects of photoperiod on growth, mortality and digestive enzymes in miiuy croaker larvae and juveniles. *Aquaculture*. 281: 70-76.

Shad J. 1993. Changes in the spectral absorption of cone visual pigments during the settlement of the goatfish *Upeneus tragula*: the loss of red sensitivity as a benthic existence begins. *J Comp Physiol A*. 173: 115-121.

Shi, Y., Zhang, G., Zhu, Y y Liu, J. 2010. Effects of photoperiod, temperature, and salinity on growth and survival of obscure puffer *Takifugu obscurus* larvae. *Aquaculture*. 309: 103-108.

Simensen, M.L., Jonassen, M.T., Imsland, K.A y Stefanson, O.S. 2000. Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus Hippoglossus*). *Aquaculture*. 190: 119-128.

- Solbakken, J.S y Pittman, K. 2004. Photoperiodic modulation of metamorphosis in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) *Aquaculture*. 232: 613-625.
- Sumpter, J.P. 1992. Control of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 100: 299-320.
- Takemura, A., Sri Susilo, E y Rahman, M.S. 2004. Perception and possible utilization of moonlight intensity for reproductive activities in a lunar-synchronized spawner, the golden rabbitfish. *J Exp Zool*. 301A: 844-851.
- Trotter, A.J., Battaglione, S.C y Pankhurst, P.M. 2003. Effects of photoperiod and light intensity on initial swim bladder inflation, growth and post-inflation viability in cultured striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae. *Aquaculture*. 224: 141-158.
- Tuckey, L.M y Smith, T.I.J. 2001. Effects of photoperiod and substrate on larval development and substrate preference of juvenile Southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. *J. Appl. Aquac.* 11: 1-20.
- Vallone, D., Lahiri, K., Dickmeis, T y Foulkes, N. 2007. Start the clock! Circadian rhythms and development. *Dev. Dyn.* 236: 142-155.
- Van Weerd, J.H y Komen, J. 1998. The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. *Comp. Biochem. Physiol.* 120A: 107-112.
- Villamizar, N., García-Alcazar, A y Sánchez-Vázquez, F.J. 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*. 292: 80-86.
- Vizcaíno-Ochoa, V., Lazo, J.P y Baron-Sevilla, B. and Mark Drawbridge. 2010, The effect of dietary DHA on growth, survival and pigmentation of California halibut *Aquaculture*. 302: 228-234.
- Young, P.H. 1960. California ocean fisheries resources to the year 1960. *Calif. Fish Game Comm.* 148 p.
- Youson, J.H. 1988. First metamorphosis. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. 11B. Academic Press, San Diego. 135-196 p.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77: 591-625.
- Wilson, S.W y Easter, S.S., 1991. Stereotyped pathway selection by growth cones of early epiphyseal neurons in the embryonic zebrafish. *Development*. 112: 723-746.

Winzler y Kelly. 1977. A summary of knowledge of the central and northern California coastal zone and offshore areas. Volume 2 (Chapters 5-6), Biological conditions. Prepared for U.S. Bureau of Land Management. Winzler and Kelly Consulting Engineers. Eureka, California. 337 p.

Wuenschel, M. J y Werner, R. G. 2004. Effect Consumption and gut evacuation rate of laboratory-reared spotted seatrout (*Sciaenidae*) larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology*. 65: 723-743.

Zacarias-Zoto, M.D.R., Lazo, J.P., y Viana, C.M.T. 2011. Effects of three probiotics administered through live feed on digestive enzyme activity in California halibut, *Paralichthys californicus*, larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*. 42:1-11.

Zachmann, A., Ali Ma y Falcón, J. 1992. Melatonin and its effects in fishes: an overview. In: *Rhythms in Fishes*. Ali MA, ed. Plenum Press, New York. 149-165 p.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. 2nd edition. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. 130 p.