



---

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales**

Programa Institucional de Maestría en  
Ciencias Biológicas

Área Temática en Producción y Salud Animal

**“Efecto del fotoperíodo y la temperatura en el crecimiento y determinación sexual del pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*).”**

**TESIS**

**QUE PRESENTA**

**Juan Antonio Tello Ballinas**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Director: Dr. Carlos Antonio Martínez Palacios  
Codirector: Dr. Carlos Cristian Martínez Chávez

Morelia, Michoacán, Abril de 2010.

## DEDICATORIA

*Esta tesis se la dedico con todo mi amor a mis hijos Marco Antonio e Isabel los cuales son y han sido lo más importante de mi vida. A mi esposa Verónica, quien con su cariño, amor e insistencia colaboro para la culminación de este trabajo.*

*Con mucho cariño principalmente a mis padres Javier y Angélica que me dieron la vida y han estado conmigo apoyándome con todo su amor, a pesar de aquellos momentos difíciles que hemos pasado. A mis hermanos Eduardo, Guadalupe, Daniel y Delia, los cuales llevo conmigo siempre en mi corazón.*

*Con todo mi corazón a mis hermanos Juan y Mauricio, que muy seguramente se encuentran en alguna parte cercana a Dios. A mi sobrino Iván que deseo y confió muy pronto se encuentre en mejores condiciones para poder enfrentar la vida.*

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Dr, Carlos Martínez palacios le agradezco su confianza y por permitir mi superación.

Al Dr. Cristian Martínez Chávez le agradezco su atención, comprensión y apoyo para la culminación del trabajo.

A la Dra. Rebeca Rueda, le agradezco su atención, el tiempo prestado y sus consejos a mi persona.

Al Dr. Rodolfo cárdenas Reygadas, le agradezco su disposición que siempre me mostro, por la revisión del escrito y por sus valiosos comentarios.

Al Dr. Antonio Campos Mendoza por brindarme su amistad y por estar dispuesto a apoyarme en todo momento.

A la Dra. Gisela Ríos por su apoyo incondicional cuando lo requerí.

A mi compadre Lázaro y Jesús por su gran amistad, por un apoyo incondicional y por estar ahí en los malos y buenos momentos.

A mi amigas Dafne, Lidia y Ana Carmen, les agradezco su apoyo cuando lo requerí y les doy las gracias por ser personas de magnifica calidad humana.

A mis compañeros del laboratorio Norma, Luis y Carlitos por su apoyo durante los muestreos.

A mis compañeros de la maestría, Pamela, Liz, Ana Rosa, Anita y Manuel les doy las gracias por brindarme su apoyo y amistad.

Al proyecto ciencia básica CONACYT con clave 84823. “Optimización del crecimiento de peces atherinópsidos mediante el manejo de condiciones ambientales, genéticas, fisiológicas y nutricionales”

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
INDICE .....	iii
TABLA DE FIGURAS Y CUADROS .....	vi
RESUMEN .....	viii
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1.-EL PEZ BLANCO .....	1
1.2.- CRECIMIENTO .....	2
1.2.1.- BIOENERGETICA O REPARTICION DE ENERGÍA.....	4
1.3.-CONTROL DE LA REPRODUCCION .....	6
1.3.2.- ORGANO PINEAL.....	7
1.3.2.-HORMONA MELATONINA .....	8
1.3.3.-FACTORES EXTERNOS .....	9
1.4.-FOTOPERIODO .....	10
1.5.- DETERMINACION SEXUAL .....	12
1.6.- DIFEERENCIACION DE GÓNADAS .....	14
1.7.- JUSTIFICACIÓN .....	16
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1.- OBJETIVOS GENERALES .....	17

2.2.- OBJETIVOS PARTICULARES .....	17
<b>3 MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
3.1.-MODELO EXPERIMENTAL .....	18
3.2.-ORGANISMOS EXPERIMENTALES .....	19
3.3.-ALIMENTACION .....	22
3.4.-CALIDAD DEL AGUA .....	23
3.5.- MUESTREOS .....	23
3.6.-ANALISIS PROXIMALES .....	24
3.6.1.-HUMEDAD .....	24
3.6.2.-PROTEINA CRUDA .....	25
3.6.3.-EXTRACTO ETereo .....	25
3.6.4.-CENIZAS .....	25
3.6.5.-EXTRACTO LLIBRE DE NITROGENO .....	26
3.7.-ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	26
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>27</b>
4.1.-EXPERIMENTO I (FOTOPERIODOS) .....	27
4.1.1.-SUPERVIVENCIA .....	27
4.1.2.-CRECIMIENTO .....	28
4.1.3.-ANALISIS PROXIMAL .....	30
4.2.-EXPERIMENTO II (TEMPERATURAS) .....	31
4.2.1.-SUPERVIVENCIA .....	31
4.2.2.-CRECIMIENTO .....	32

4.2.3.-PROPORCIÓN SEXUAL POR TEMPERATURA .....	34
<b>5 DISCUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>6 CONCLUSIONES .....</b>	<b>41</b>
<b>7 BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>42</b>

## TABLA DE FIGURAS Y CUADROS

<b>Figura 1.</b> Pez blanco de Pátzcuaro ( <i>Menidia estor</i> ) .....	2
<b>Figura 2.</b> Reparto de energía.....	5
<b>Figura 3.</b> Eje cerebro-hipófisis-gónada.....	7
<b>Figura 4.</b> Estructura de la Hormona Melatonina .....	9
<b>Figura 5.</b> Ruta triptófano a melatonina .....	9
<b>Figura 6.</b> Esquema básico de la diferenciación y determinación sexual en peces.....	15
<b>Figura 7.</b> Obtención de espermatozoides de un macho (A) y obtención de óvulos de una hembra (B) de <i>Menidia estor</i> .....	20
<b>Figura 8.</b> Sistema de recirculación en canaletas segmentadas (A). Cilindros de PVC (B). durante los primeros 20 dpe.....	21
<b>Figura 9.</b> Sistema de canaleta segmentada (A, B y C). Usado después de los 20 días hasta los 40 dpe.....	21
<b>Figura 10.</b> Sistema de recirculación usado desde los 40 días hasta los 90 días de edad de los peces ( <i>M. estor</i> ) .....	22
<b>Figura 11.</b> Supervivencia en <i>M. estor</i> en diferentes fotoperíodos.....	28
<b>Figura 12.</b> Crecimiento en peso (mg) de larvas de <i>M. estor</i> en fotoperíodos .....	29
<b>Figura 13.</b> Crecimiento en longitud total de larvas de <i>M. estor</i> en fotoperíodos .....	30

<b>Figura 14.</b> Supervivencia en <i>M. estor</i> a diferentes temperaturas .....	32
<b>Figura 15.</b> Crecimiento en peso de larvas de <i>M. estor</i> a diferentes temperaturas .....	33
<b>Figura 16.</b> Crecimiento en Long. total de larvas de <i>M. estor</i> a diferentes temperaturas .....	33
<b>Figura 17.</b> Proporción sexual en <i>M. estor</i> a diferentes temperaturas .....	34
<b>Cuadro 1.</b> Comparativo de resultados con el uso de luz continua en diferentes especies de peces .....	12
<b>Cuadro 2.</b> Parámetros fisicoquímicos del agua en el sistema experimental...	27
<b>Cuadro 3.</b> Análisis proximales de peces <i>Menidia estor</i> crecidos a diferentes fotoperíodos .....	31

## RESUMEN

Los estudios realizados en los últimos 10 años, sobre el pez blanco *Menidia estor* han permitido determinar su potencial acuicola, contando actualmente con el ciclo completo de cultivo. Sin embargo, como parte de la problemática que presenta se incluye el crecimiento bajo comparado con otras especies de interés comercial en la región. Los objetivos del presente trabajo fueron conocer por un lado el efecto del fotoperíodo en el crecimiento y el segundo evaluar la influencia de la temperatura en la proporción sexual después de 90 días post eclosión. Para ello, se diseñaron dos experimentos que se corrieron en paralelo contrastando contra un mismo tratamiento control 25°C (12L:12D). Para el primer experimento se probaron tres diferentes fotoperíodos 24L:0D, 12L:12D y 6L:6D (donde L= Horas Luz y D= Horas Oscuridad) a una misma temperatura (25°C). Los resultados mostraron la mayor ganancia de peso y longitud total en los organismos expuestos al fotoperíodo de luz continua (24L:0D) con un 43% y 12.86% para peso y talla respectivamente, siendo significativamente diferente ( $P>0.05$ ) del resto de los tratamientos desde los primeros 15 días hasta los 90 días. Por otro lado, en este mismo experimento y tratamiento en los análisis proximales se observó un aumento de grasas y una disminución de proteínas significativamente diferente con los fotoperíodos 12L:12D y 6L:6D, con una media de 2.84 % y 15.6 % respectivamente. En el segundo experimento donde se probaron 5 diferentes temperaturas (19, 21, 23, 25 y 27°C) con un fotoperíodo de 12L:12D. Se encontró que la mejor temperatura en términos de crecimiento y supervivencia de las larvas expuestas fue de 25°C, mientras que la proporción sexual fue de 1:1 (hembra:macho). El presente estudio permite concluir que el crecimiento y supervivencia de larvas de *Menidia estor* fue notablemente mayor para el

tratamiento de luz continua. Por otro lado, se sugiere hacer un nuevo estudio desde fertilización del huevo, para corroborar si existe un efecto por temperatura sobre el sexo en esta especie.

Palabras Clave: Fotoperíodo, temperatura, crecimiento, pez blanco.

## 1.- INTRODUCCIÓN

### 1.1- EL PEZ BLANCO

El pez blanco *Menidia estor* es una especie endémica del lago de Pátzcuaro, que junto con los charales (*Mendía spp.*) representan valores culturales, tradicionales y económicos para las comunidades indígenas (Purhépechas) que habitan la rivera del lago (Fig.1). El pez blanco se encuentra en riesgo de desaparecer debido a las alteraciones en su hábitat, a la falta de una regulación estricta en su pesquería y a su alto precio en el mercado local, lo que motiva a los pescadores a continuar aplicando el esfuerzo pesquero sobre este recurso. De acuerdo con la Carta Nacional pesquera (2006), la pesquería de la especie ha sido completamente abatida sin cifras oficiales de captura, lo que hace evidente la problemática en que esta se encuentra actualmente. El grupo de trabajo del laboratorio de acuicultura y nutrición (IIAF) de la Universidad Michoacana, ha realizado diversos estudios a través de los últimos 10 años, los cuales permiten contar actualmente con el ciclo de cultivo completo en cautiverio. Sin embargo, el pez blanco tiene un crecimiento lento; alcanza la talla comercial a los 2 años (150-200 g aprox). Este aspecto ha limitado el potencial de cultivo a nivel comercial debido a los altos costos de producción que se generan.

Hasta hoy, los estudios realizados se han enfocado principalmente en determinar aspectos de la biología y fisiología básica de la especie. De forma tal que hasta el momento se conoce la temperatura óptima de cultivo larvario es de 25°C (Martínez-Palacios *et al.*, 2002a). De igual forma, se ha encontrado que el mayor crecimiento y supervivencia de larvas se lleva a cabo en salinidades de 10 g/L-1 a

15 g/L-1 (Martínez-Palacios *et al.*, 2004). Además, a través de la utilización de diferentes experimentos con dietas isocalóricas se ha establecido que el mejor crecimiento en larvas se obtiene con un 42 % de proteína en la dieta (Martínez-Palacios *et al.*, 2007a). La parte referente a la reproducción, los estudios preliminares de estimulación por fotoperíodo indican que días largos (18L:6D y 24L:0D donde L=Luz y D=Oscuridad) incrementan el periodo reproductivo en esta especie (Martínez-Palacios *et al.*, 2007b).

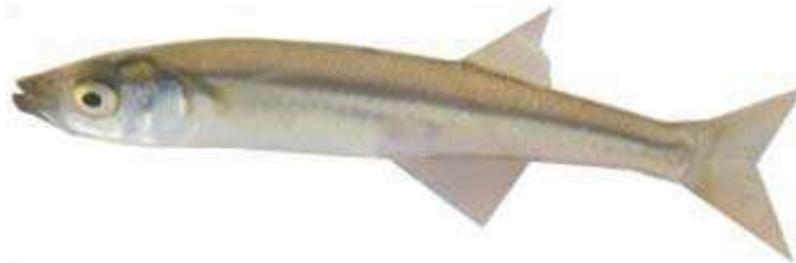


Figura 1. Pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*).

## 1.2.-CRECIMIENTO

El crecimiento es un proceso complejo que tiene cualquier organismo, el cual involucra una serie de procesos fisiológicos, metabólicos y de comportamiento que, se da a través de la ingesta de alimento hasta la eliminación final de los residuos no útiles para el organismo (Evans, 1999). El crecimiento se define como el aumento en tamaño y/o ganancia de peso del animal resultado del aumento en tamaño de tejido debido a la producción de nuevas células (hiperplasia) y el crecimiento de células existentes (hipertrofia) (Evans, 1999; Caravaca *et al.*, 2003; Nuñez, 2009; Martínez-Porchas *et al.*, 2009).

El crecimiento en vertebrados poiquiloterms como lo son los peces teleósteos, pueden ser influenciados por factores genéticos, ambientales (temperatura, fotoperíodo, etc) y nutricionales (Evans, 1999). En la producción animal en general y para la acuicultura, el crecimiento de los organismos es un aspecto muy importante en el desarrollo de las actividades tendientes a su aprovechamiento, por lo que el hacer este más eficiente es de gran importancia para lograr una mayor rentabilidad en el producto. Por ello hoy día existen diferentes estrategias para lograrlo.

Las estrategias de producción en las granjas comerciales tienen como finalidad incrementar el rendimiento. En la piscicultura se puede manipular el sexo o provocar esterilización. El cultivo de organismos monosexos por un lado impide la reproducción, de forma tal que los peces esterilizados ahorran energía al no presentar desarrollo gonadal, esta energía se aprovecha en el crecimiento somático (Buxade, 1997). En la actualidad para la piscicultura, una adecuada opción es sembrar ejemplares de un solo sexo con la finalidad de producir peces de mayor talla y de mejor calidad para el mercado (Donaldson, 1996). La diferencia de tallas entre sexos es bastante frecuente y tanto los machos como las hembras, pueden presentar mejores índices de conversión de alimento. Por ejemplo en la tilapia (*Orochromis niloticus*) y el bagre o pez gato (*Ictalurus punctatus*) los machos crecen mejor que las hembras (Morales, 1991; Donaldson, 1996), mientras que en la trucha (*Oncorhynchus mikis*) (Donaldson, 1996) y en el pejerrey (*Odontesthes bonriensis*) (Strussmann, 1989) las hembras crecen mejor que los machos. En *Menidia estor* las hembras poseen mejor crecimiento (Martínez-Palacios comunicación personal). La producción de peces monosexo se puede obtener por reversión sexual a través

de la administración de esteroides sexuales antes y/o durante la diferenciación sexual. Es decir para lograr machos se aplican andrógenos y para hembras estrógenos (Buxade, 1997; Devlin y Nagahama, 2002). Los andrógenos sintéticos más utilizados son la 17 $\alpha$ metiltestosterona (MT), la 17 $\alpha$ metil-dehidrotestosterona (MDHT) y los naturales como la testosterona (T) y la 11-cetotestosterona (11-KT); entre los estrógenos sintéticos esta el 17 $\alpha$  etinil-estradiol y entre los naturales más utilizado esta el 17 $\beta$ estradiol (E<sub>2</sub>), (Carrillo y Zanuy, 2003). La reversión sexual también se puede lograr por la exposición a temperaturas (altas o bajas) en algunas especies, donde se pueden obtener poblaciones de peces monosexos e incluso se puede provocar la esterilidad. Como un ejemplo tenemos al pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Strüssmann *et al.*, 1996a) donde a temperaturas de entre 13 y 15 °C se obtiene 100% hembras en 5 semanas de exposición en larvas posteclosión, en tanto que en un periodo de exposición de 8 a 12 semanas a temperatura como 29°C se puede obtener un 100% de peces estériles.

La madurez sexual como se ha venido mencionando con anterioridad puede afectar negativamente el crecimiento somático debido a la energía consumida por el proceso reproductivo en vez de al crecimiento (Evans, 1999; Schulz *et al.*, 2006, Rad *et al.*, 2006), para lo cual es importante entender de manera general como se distribuye la energía.

### **1.2.1.-Bioenergética o repartición de energía**

En términos fisiológicos la energía es utilizada para tres fines: supervivencia, crecimiento y reproducción, (Fig. 2) (Evans, 1999). Mientras el pez es inmaduro toda la energía adquirida se reparte entre el crecimiento y metabolismo basal, pero una

vez llegada la pubertad, una gran parte de esta energía es dirigida hacia la reproducción (Jobling *et al.*, 1994; Evans, 1999). En algunas especies después de la primera maduración sexual no hay energía disponible para la supervivencia y los organismos mueren por lo que sólo habrá tenido lugar un ciclo reproductivo; a estas especies se les denomina semélparas, tal como los salmones del género *Oncorhynchus* (Wootton, 1998; Saborido, 2004). Otras especies, mantienen energía después de concluido el ciclo reproductivo y los peces tendrán la oportunidad de crecer y volver a reproducirse, a estas especies se les denomina iteróparas, como es el caso de la mayoría de las especies de peces marinos (Wootton, 1998). Entre estas últimas hay especies que dedican casi toda la energía a la reproducción y menos al crecimiento; normalmente suelen ser especies de vida corta (Wootton, 1998; Saborido, 2004). Otras especies dedican tanta o más energía al crecimiento que a la reproducción; suelen ser especies longevas que llegan a tener un gran tamaño (Saborido, 2004).

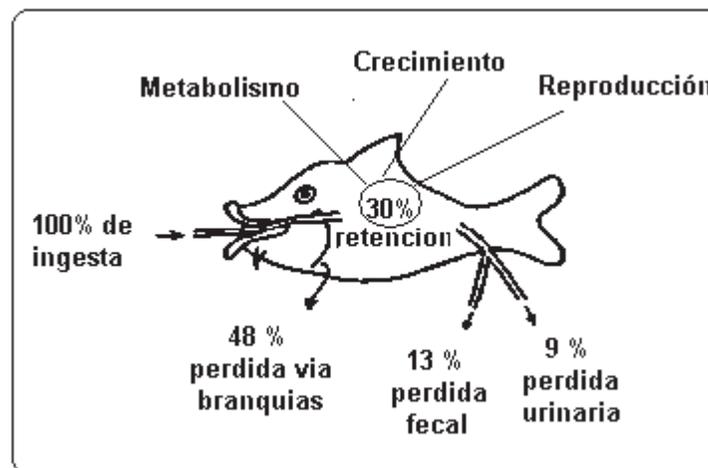


Figura 2. Reparto de energía. Tomado y modificado de Tacon, 1987.

### **1.3.- Control de la reproducción**

La reproducción es un proceso complejo, que demanda la captación de estímulos y la coordinación fisiológica; esta última es regulada por hormonas secretadas sobre el eje Cerebro-Hipófisis-Gónadas (CHG) que responde a estímulos provocados por los factores ambientales (por ejemplo: el fotoperiodo y temperatura) (Ramos *et al.*, 2002; Muñoz-Cueto, 2002; Sheperd y Bromage, 2005; Sánchez-Vázquez y Muñoz-Cueto 2007).

Los neurotransmisores están presentes en las diferentes partes del cerebro que regulan (estimulan e inhiben) la secreción de hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH) en la hipófisis (Muñoz-Cueto, 2002; González, 2003; Carrillo y Zanuy, 2003a). Las gonadotropinas llevan a cabo la acción de la gametogénesis en el ovario y testículo, estimulando la secreción de esteroides sexuales. Existen dos tipos de hormonas gonadotropinas: Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Leutinizante (LH) (Muñoz-Cueto, 2002; González, 2003; Carrillo y Zanuy, 2003a). Las gónadas son capaces de producir varios tipos de esteroides como estrógenos, andrógenos y prostagenos en respuesta a las gonadotropinas. Estos son capaces de actuar en el hígado, sobre la propia gónada, la hipófisis y el cerebro en un circuito de retroalimentación (Fig. 3) (Muñoz-Cueto, 2002; Carrillo y Zanuy, 2003a).

En vertebrados existen al menos tres estructuras (órgano pineal, retina y fotoreceptores de cerebro), estos son capaces de percibir información fótica externa (a través de foto receptores), los cuales pueden o no contener marcapasos (osciladores endógenos) capaces de “llevar” un tiempo biológico (Sánchez-Vázquez *et al.*, 2000).

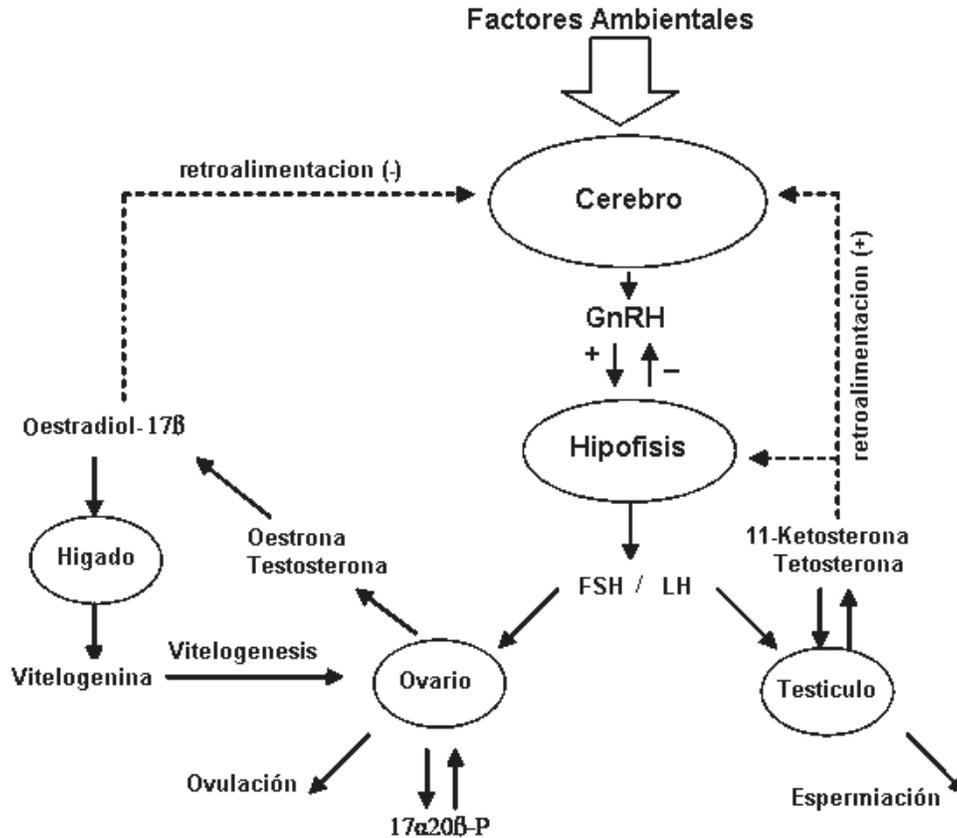


Figura 3. Eje cerebro-hipófisis-gónada, (Tomado de Davie, 2005).

### 1.3.1.-Órgano pineal

La luz es percibida por células fotorreceptoras (visuales y no visuales) de la retina tanto en mamíferos como en peces, adicionalmente en estos últimos, existe la ventana pineal que no es más que un hueso traslucido del techo craneal que permite el paso de luz hacia las células fotorreceptoras llamadas pinealocitos del órgano pineal, el cual en peces es directamente fotosensible (Evans, 1999; Ekstrom y Meissl 1997; 2003). El órgano pineal que está localizado en la parte superior del cerebro es una estructura alargada que se localiza en posición medial entre el telencéfalo y techo óptico (Evans, 1999; Sánchez-Vázquez y Muñoz-Cueto, 2007). En órgano

pineal se secretan y liberan de manera rítmica compuestos bioactivos, entre los que él más extensamente estudiado es la hormona melatonina (Falcón, 1999; Bromage *et al.*, 2001; Bayarri *et al.*, 2004; Paredes, 2007).

### **1.3.2. Hormona melatonina**

La biosíntesis de melatonina por parte del órgano pineal comienza con la captación de su precursor el aminoácido esencial triptófano. Este es tomado de la sangre por los pinealocitos, para ser convertido en serotonina mediante una hidroxilación (enzima TRP-Hidroxilasa) y una descarboxilación (enzima Carboxilasa), tras ello, la serotonina es acetilada por la enzima Arilalquilamina N-acetil-transferasa (AANAT) produciendo N-acetilserotonina, la cual es metilada (enzima Hidroxindol-O-metiltransferasa) para dar lugar a la melatonina (Fig. 5) (Zachmann, *et al.*, 1992; Falcon, 1999; Ekstrom y Meissl, 2003). La hormona melatonina (Fig. 4) en los peces es similar a la forma en como funciona en todos los vertebrados, presenta niveles plasmáticos elevados durante la noche y basales durante el día. Por ello, la melatonina es conocida como la “señal química de la oscuridad” (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1997; Bromage *et al.*, 2001; Bayarri *et al.*, 2005; Sánchez-Vázquez y Muñoz-Cueto, 2007). La hormona melatonina actúa como un marcador y modulador endocrino en la madurez sexual y en el crecimiento, actuando como respuesta a estímulos ambientales como el fotoperíodo y la temperatura (Davis *et al.*, 1992; 1994; Carrillo *et al.*, 1987; Endal *et al.*, 2000; Bromage *et al.*, 2001).

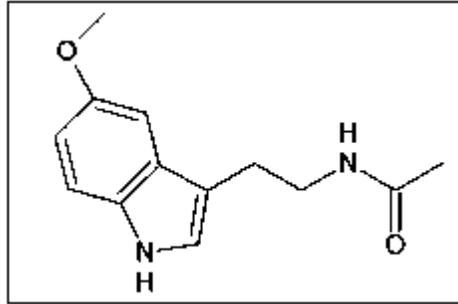


Figura 4. Estructura de la Hormona Melatonina.

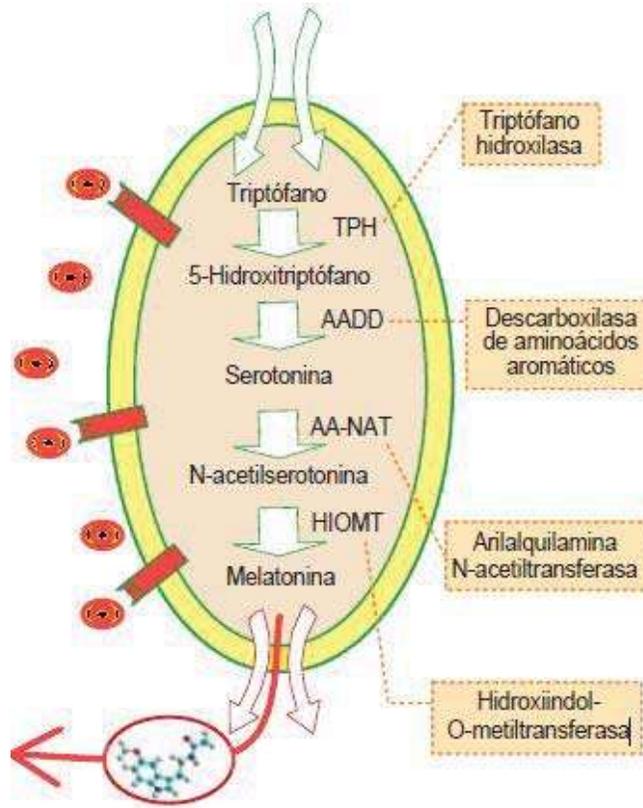


Figura 5. Ruta triptófano a melatonina, (tomado de Guerrero *et al.*, 2007).

### 1.3.3.- Factores externos

El fotoperíodo y la temperatura son considerados los principales factores ambientales que inciden directamente sobre los seres vivos. En el caso particular de los peces son sensibles a los cambios ambientales diurnos (día-noche) y estacionales (días más largos en verano, días más cortos en invierno, temperaturas

más altas en verano y bajas en invierno). No obstante, estas variaciones ocurren según la localización geográfica de los peces, es decir, dependen de la latitud en que se encuentren (latitudes altas mayor variación y latitudes bajas menor variación) (Saborido, 2004). A lo largo de la evolución, los seres vivos se han desarrollado en un ambiente cíclico (día y noche), por lo que los ritmos biológicos son una característica conservada desde organismos unicelulares a los mamíferos (Ekstrom y Meissl, 2003). Los ritmos biológicos circadianos son aquellos que poseen un frecuencia cercana al día ( $24\pm 4h$ ), pero también los hay ultradianos ( $<20h$ , por ejemplo, los ritmos de la marea) e infradianos ( $>28h$  por ejemplo ritmos lunares y estacionales) (Sánchez-Vázquez y Muñoz-Cueto 2007). La mayoría de los organismos vivos, poseen un ritmo circadiano en sus procesos biológicos, fisiológicos y de comportamiento (Guerrero *et al.*, 2007).

#### **1.4.-FOTOPERÍODO**

El fotoperíodo es el ciclo de luz y oscuridad o la duración del día y la noche, y es una de las señales más constantes durante los años. La manipulación del fotoperíodo ha sido utilizada como una herramienta biotecnológica para regular funciones reproductivas tales como el control de la maduración temprana, la producción de huevos y crías; y el incremento en la tasa de crecimiento de los peces en el cultivo (Barlow *et al.*, 1995; Endal *et al.*, 2000; Bromage *et al.*, 2001; Kissil *et al.*, 2001; Rad *et al.*, 2006). El uso del fotoperíodo en el cultivo de peces de aguas templadas y muy recientemente en peces tropicales ha demostrado que el fotoperíodo puede aumentar significativamente el crecimiento (longitud y peso) en días largos (18L:6D) y en luz continua (24h). Algunas especies con estas respuestas

son: el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Endal *et al.*, 2000; Berril *et al.*, 2003), el salmón masu (*Oncorhynchus masou*) (Amano *et al.*, 2000), la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Bromage *et al.*, 1993, 2001; Taylor *et al.*, 2005, 2006), el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) (Davie, 2005), lubina europea, (*Dicentrarchus labrax*) (Carrillo *et al.*, 1987; Rodríguez *et al.*, 200, 2005; Ramos, *et al.*, 2002), el eglefino *Melanogrammus aeglefinus* (Davie *et al.*, 2007, 2007a), el pargo rojo *Pagrus major* (Biswas *et al.*, 2005), la dorada *Pagrus auratus* (Fielder *et al.* 2002), la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Ridha y Cruz, 2000; Campos-Mendoza *et al.*, 2004; El-sayed y Kawanna 2004; Rad *et al.*, 2006; Martínez-Chávez, 2008). En todas estas especies se ha observado un incremento en el crecimiento somático, una mejor conversión alimenticia y una reducción en el tamaño de las gónadas o retraso de la maduración. Los resultados de los estudios de fotoperíodo en peces de edades tempranas se sintetizan en el cuadro 1, donde podemos observar valores registrados de crecimiento y supervivencia son mayores en los tratamientos de luz continua (24L:0D) en comparación de fotoperíodos intermedios o cortos.

**Cuadro1. Cuadro comparativo con el uso de luz continua en diferentes especies de peces.**

<b>Especie</b>	<b>Etapas de desarrollo</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Respuesta y referencia</b>
<b><i>Oreochromis niloticus</i></b>	Larvas/168 dpe	24L:0D, 18L:6D, 12L:12D y 6L:18D	Mejora su crecimiento (69.89%) y supervivencia en luz continua (El-Sayed <i>et al.</i> , 2004, Rad <i>et al</i> 2006).
<b><i>Pagrus auratus</i></b>	Larvas/ 32 dpe	0L:24D, 6L:18D, 12L:12D, 18L:6D, y 24L:0D.	Luz continua mejora el crecimiento tanto en longitud como en peso incrementando en un 20% con respecto a 12L:12D (Fielder <i>et al</i> 2002).
<b><i>Oncorhynchus mykiss</i></b>	Juveniles/ 8 meses	24L:0D y NL	Luz continua incrementa el crecimiento hasta en 30 % (Taylor <i>et al.</i> , 2005, 2006).
<b><i>Pagrus major</i></b>	Juveniles/ 8 semanas	24L:0D 16L:8D, 6L:6D y 12L:12D	Luz continua mejora crecimiento en un 32% con respecto al control (Biswas <i>et al.</i> , 2005).
<b><i>Melanogrammus aeglefinus</i></b>	Juveniles/ 19 meses	24L:0D y SNP	Luz continua incrementa hasta en un 50% el crecimiento somático (Davie <i>et al.</i> , 2007. Davie <i>et al.</i> , 2007a).

### 1.5.-DETERMINACION SEXUAL

La determinación del sexo en los vertebrados es genética, sin embargo, en un número importante de ellos, la expresión de los genes determinantes del sexo puede ser modificada por factores ambientales tales como la temperatura, como ocurre en peces y réptiles (cocodrilos y tortugas) (Pieau 1996; Bull 1980, Piferrer, 2001; Ospina-Álvarez y Piferrer, 2008). En peces, la primera evidencia de determinación sexual por temperatura (DST) fue obtenida en estudios de campo y laboratorio en *Menidia menidia* (Conover y Kynard 1981). En estudios con el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) han demostrado que el sexo fenotípico puede ser alterado por la temperatura a la que son expuestas las larvas durante un período denominado de diferenciación sexual. En esta especie, las poblaciones de hembras son producidas

a bajas temperaturas (13°C) y la de machos a altas temperaturas (29°C) (Strüssmann *et al.*, 1996a; 1996b, 1998). En el cascarudo o cascudo *Hoplosternum littorale* (Hostache *et al.*, 1995) y en la anchoa *Poeciliopsis lucida* (Schultz, 1993) incrementa la proporción de machos con altas temperaturas, en tanto que bajas temperaturas favorecen la determinación de hembras. Sin embargo, en algunas especies como *Oreochromis niloticus* y *O. aureus* e híbridos las proporciones sexuales no son afectadas por la temperatura (Baroiller, *et al.*, 1999). No obstante, existen dos especies, la lubina europea *Dicentrarchus labrax* (Blázquez *et al.*, 1998) y el bagre de canal *Ictalurus punctatus* (Patiño *et al.*, 1996) en que las temperaturas altas favorecen un alto porcentaje de hembras y las bajas temperaturas de machos. Por su parte el lenguado de Japón (*Paralichthys olivaceus*) produce poblaciones de machos monosexo en ambos extremos de temperatura (Yamamoto, 1995). Estos ejemplos son sin duda, evidencia de distintas estrategias y mecanismos de diferenciación sexual por temperatura. La determinación sexual es controlada a través de una variedad de rutas metabólicas en donde participan mecanismos endógenos como factores de transcripción, enzimas esteroideogénicas, receptores, y esteroides sexuales responsables de la diferenciación sexual en peces (Nakamura *et al.*, 1998; Baroiller *et al.*, 1999; Piferrer, 2001; Devlin y Nagahama, 2002). A la fecha, se han identificado algunos genes específicos implicados en la biosíntesis de esteroides diferencialmente expresados en células somáticas de testículos y ovarios durante el periodo de diferenciación sexual (Devlin y Nagahama, 2002, González, 2003). Entre los genes, se ha sugerido el gen CYP19, que codifica la enzima citocromo P450 aromatasa, convierte testosterona en 17 $\beta$ -estradiol siendo esta última la responsable de inducir el desarrollo del ovario (Baroiller y D’Cotta, 2001;

González, 2003). Si bien, los genes determinantes del sexo comienzan sus procesos en el cerebro, la temperatura puede influir en la estructura-función de las proteínas y enzimas que participaran en la producción de esteroides sexuales y así sesgar la proporción sexual (Devlin y Nagahama, 2002).

### **1.6.-Diferenciación de las gónadas**

El sexo genético normalmente se establece en el momento de la fertilización, sin embargo, existe un periodo inicial de establecimiento celular durante el desarrollo o diferenciación de las gónadas (donde interactúan las células germinales (CG) y las células somáticas (CS)) (Jiménez y Merchant, 2003), en el cual los organismos pueden ser revertidos. En peces y en otros vertebrados, las gónadas se desarrollan en la región dorsal de la cavidad celómica. El proceso inicia cuando las células germinales primordiales (CGPs) migran desde el endodermo (cerca del saco vitelino en algunas especies) por vía mesentérico-intestinal hacia la región urogenital entre el mesonefros en desarrollo y la zona de origen del mesenterio. En esta zona se forman un engrosamiento, el cual es denominado como cresta germinal (Reidding y Patiño, 2000; Devlin y Nagahama, 2002; Jiménez y Merchant, 2003). La cresta sobresale y la conexión entre la masa de células y la pared del peritoneo se constriñe lateralmente, por lo que la gónada indiferenciada queda suspendida de la pared del peritoneo por una doble capa del mismo en el mesorquio o mesovario (Balinsky, 1978). La llegada de las CGPs donde presuntamente quedara la gónada y la pérdida de sus características migratorias marcan el inicio de otra fase de desarrollo (Jiménez y Merchant, 2003). Las células somáticas que participan son las mesoteliales y mesenquematicas derivadas del mesodermo (Jiménez y Merchant,

2003). Subsecuentemente, estas mismas células diferencian al testículo en túbulos seminíferos y tejido conectivo y en el ovario forma folículos que rodean a los oocitos con una capa interna granulosa y otra externa tecal (Fig. 6) (Devlin y Nagahama, 2002). Ver figura 6.

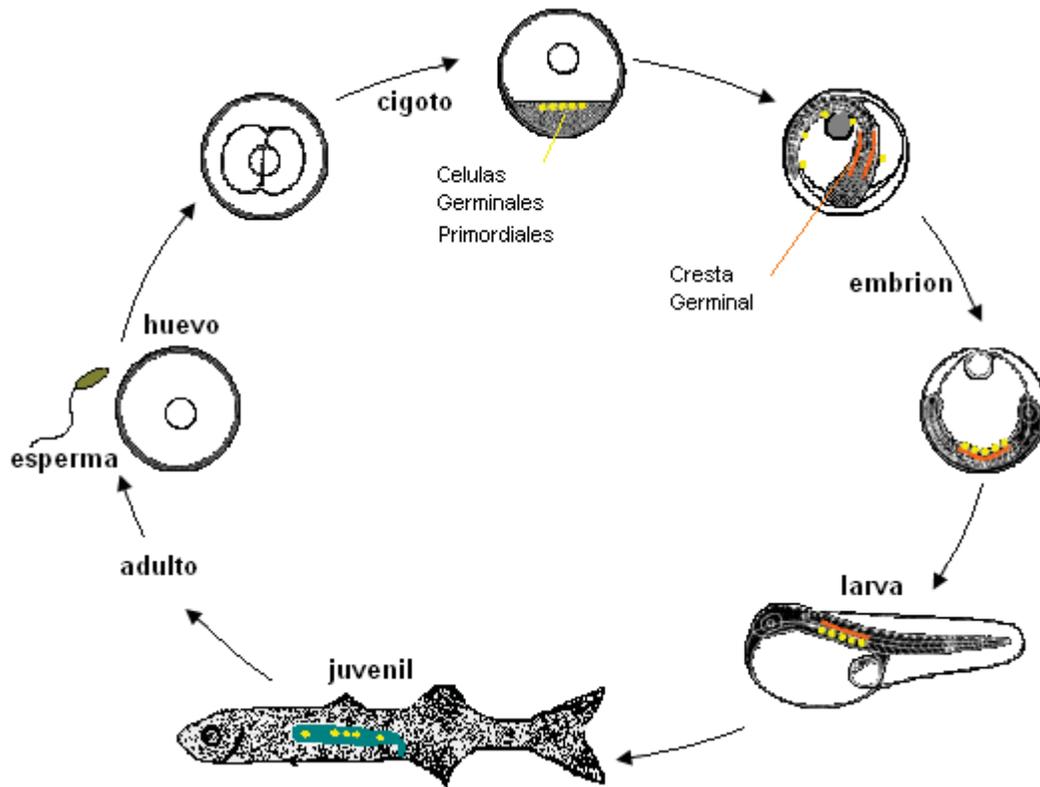


Figura 6. Esquema básico de la diferenciación y determinación sexual en peces. Tomado y modificado de Strussman, 2006.

## 1.7.- JUSTIFICACION

En la actualidad el pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*) es de gran interés para la acuicultura, ya que es considerada como una alternativa prometedora para sumarse a la gama de peces cultivados a nivel comercial. La presente investigación plantea el hacer más eficientemente el cultivo buscando la temperatura y el fotoperíodo que permitan mejorar el crecimiento de la especie. La importancia de generar un cultivo exitoso con esta especie nativa y endémica amenazada, podría ayudar de alguna forma a disminuir la presión de pesca y así lograr recuperar las poblaciones naturales del lago de Pátzcuaro.

## **2.- OBJETIVOS**

### **2.1.-OBJETIVO GENERAL**

2.1.1.-Determinar el efecto de diferentes fotoperíodos (24L:0D, 6L:6D, 12L:12D) y temperaturas (19, 21, 23, 25 y 27°C) en el crecimiento de larvas recién eclosionadas del pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*).

### **2.2.-OBJETIVOS PARTICULARES**

2.2.1.- Describir la supervivencia y el crecimiento de larvas recién eclosionadas de *Menidia estor* a diferentes fotoperíodos (24L:0D, 6L:6D, 12L:12D) y temperaturas (19, 21, 23, 25 y 27°C).

2.2.2.- Determinar el efecto de los diferentes fotoperíodos utilizados (24L:0D, 6L:6D, 12L:12D) en la composición bioquímica de *Menidia estor* por medio de análisis proximales.

2.2.3.-Evaluar el efecto de la temperatura (19, 21, 23, 25 y 27°C) post eclosión en la proporción sexual en *Menidia estor*.

### **3.- MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo fue realizado en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) campus San Juanito Itzicuaru perteneciente a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, dentro del laboratorio de Nutrición y Acuicultura.

#### **3.1.- MODELO EXPERIMENTAL**

Para poder cubrir los objetivos del presente trabajo, se realizaron dos experimentos, uno diseñado para conocer el efecto del fotoperíodo en el crecimiento y el segundo para evaluar la influencia de la temperatura en la proporción sexual. Ambos experimentos se corrieron en paralelo y contrastando con un mismo tratamiento control (25°C 12L:12D).

Experimento 1.- Efecto del fotoperíodo en el crecimiento.

Con el objetivo de conocer el efecto del fotoperíodo en larvas recién eclosionadas de *M. estor* en el crecimiento. Las larvas fueron sometidas a tres fotoperíodos 6L:6D, 12L:12D, 24L:0D (donde L=Luz y D=Oscuridad) a una misma temperatura de 25°C, con duración de 3 meses, edad en que esta especie requiere de mayor espacio en los sistemas de cultivo. Los sistemas experimentales para cada fotoperíodo son áreas aisladas con paredes de plástico negro de invernadero para delimitar los tratamientos y replicas. La iluminación se llevó a cabo con focos de tungsteno que proporcionan luz fría y luz de día, de 60 watts. La intensidad de luz de

la superficie del agua fue de 370 luxes en promedio y fué determinada mediante un fotómetro digital (modelo YF-170 marca YFE).

Experimento 2.- Efecto de la temperatura en el crecimiento y la proporción sexual.

Con el objetivo de conocer el efecto de la temperatura en larvas recién eclosionadas de *M. estor* en la determinación sexual. Las larvas fueron sometidas a cinco diferentes temperaturas iniciales (19, 21, 23, 25 y 27°C) y un fotoperíodo de 12L:12D durante 30 días y posteriormente igualados a 25°C, con base a un ensayo preliminar realizado con esta especie en el cual se constató por histología que el sexo se encuentra determinado previ6 a los 30 días dpe. Bajo estas condiciones de haber sido igualados a 25°C, los organismos fueron llevados a una edad de 3 meses (90 días post eclosi6n).

### **3.2.- ORGANISMOS EXPERIMENTALES**

Para la obtenci6n de las larvas, se parti6 de los desoves obtenidos de 10 parejas de reproductores de *Menidia estor* provenientes de la planta experimental de producci6n de pescado blanco IIAF-UMSNH los cuales se fertilizaron manualmente (Fig. 7). La incubaci6n se llev6 a cabo a una temperatura de 23°C. De estos desoves se obtuvieron 3150 larvas reci6n eclosionadas las cuales fueron colocadas en el sistema de canaletas dise~nadas para este estudio, a una densidad de 145 larvas por replica (3) por cada tratamiento. Las larvas tuvieron un peso y talla inicial en promedio de 0.38 mg y 4.40 mm.

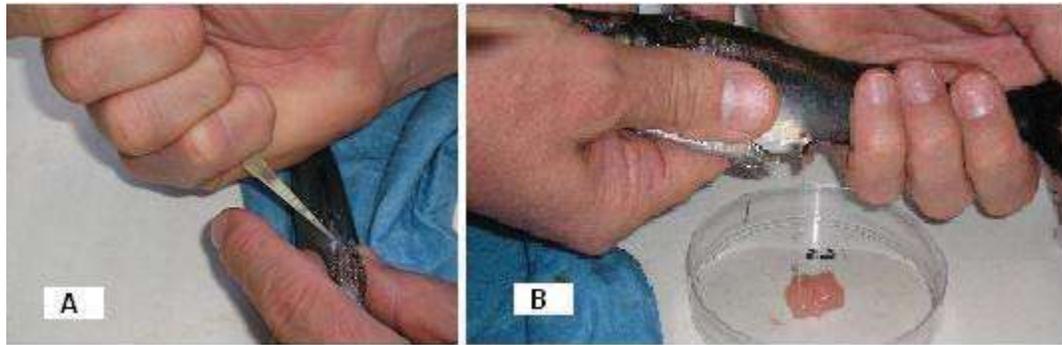


Figura 7. Obtención de esperma de un macho (A) y obtención de óvulos de una hembra (B) de *Menidia estor*.

Los sistemas de cultivo experimentales de recirculación estuvieron adaptados durante la etapa larvaria en ambos experimentos (temperaturas y fotoperíodos). Cada uno de los sistemas fue diseñado de acuerdo a la edad de los peces y evitar en lo posible un efecto inhibitor en el crecimiento por espacio por lo que el procedimiento que se dió fue el siguiente:

Para el crecimiento de los primeros 20 días post eclosión (dpe) las larvas se colocaron en cilindros de PVC de 30 cm de altura por 15 cm de diámetro los cuales poseen un fondo con malla de 60  $\mu\text{m}$  que permitían retener el alimento vivo suministrado y el paso de un flujo constante de agua en recirculación de 35 mL/min (Fig. 8 B). Dichos cilindros fueron colocados dentro de canaletas segmentadas en tres partes y conectadas entre sí con capacidad de 60 litros cada segmento (180 litros en total de capacidad por toda la canaleta-sistema) (Fig.8 A).

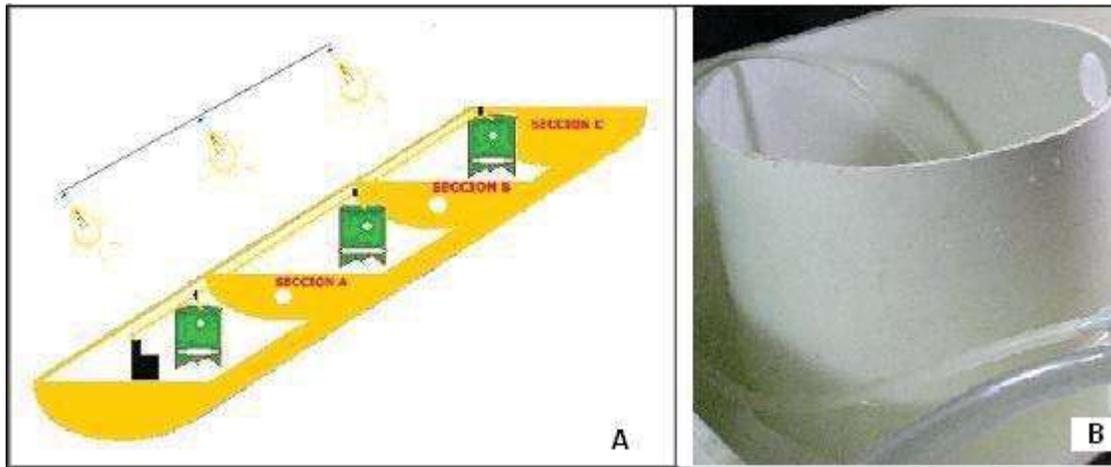


Figura 8. Sistema de recirculación en canaletas segmentadas (sección A, B y C) conteniendo los cilindros de PVC usada durante los primeros 20 dpe (A). Cilindros de PVC usados, con malla de 60 $\mu$  en el fondo (B).

En una segunda etapa de crecimiento (de los 20 dpe hasta los 40 dpe) las larvas fueron colocadas en los segmentos de canaleta de 60 L (Fig. 9). Al igual que en el experimento anterior las temperaturas iniciales únicamente fueron usadas hasta los 30 días de experimentación.

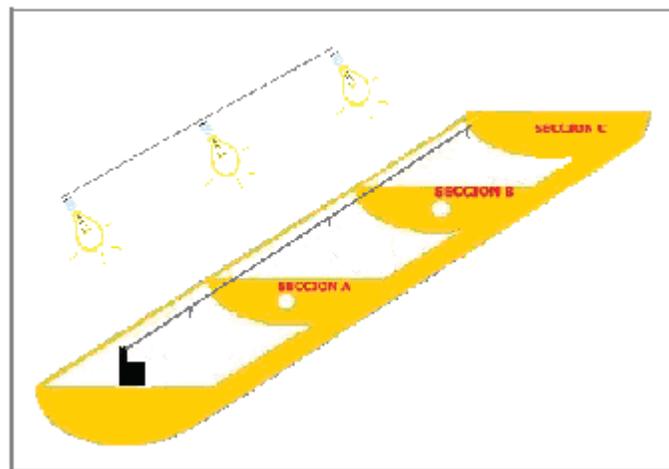


Figura 9. Sistema de canaleta segmentada en tres secciones (A, B y C). Usado después de los 20 días hasta los 40 dpe.

Durante una tercera etapa de crecimiento (40 dpe a 90 dpe) se utilizó un sistema de recirculación cerrado, con una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y una salinidad de 5 g/L-1. Este sistema contó con la suma de 21 canaletas de 3 mts con un diámetro de 4 pulg y 5 sedimentadores de 200L de capacidad y bomba (1hp) (Fig.10).

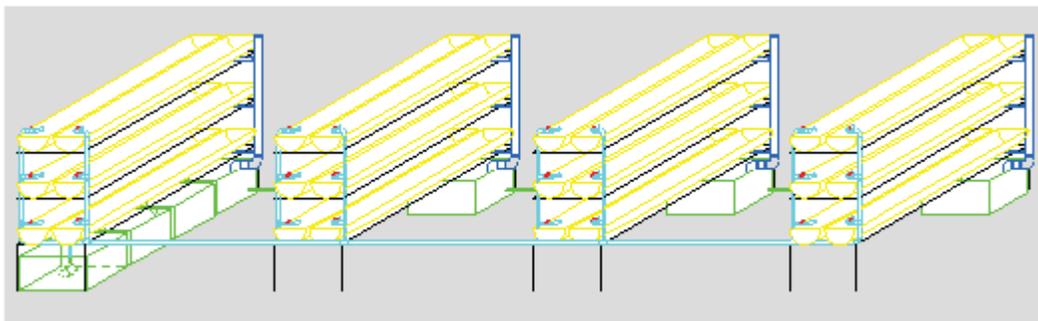


Figura 10. Sistema de recirculación utilizada después de los 40 días hasta los 90 días de edad de los peces (*M. estor*), a una sola temperatura de  $25^\circ\text{C} \pm 1$  y 5 g/l-1 de salinidad.

### 3.3.- ALIMENTACIÓN

Durante los primeros 15 dpe las larvas se alimentaron *ad libitum* con rotíferos (*Brachionus plicatilis*), a los 14 dpe se substituyó la alimentación por nauplios de *Artemia franciscana* hasta los 45 dpe, momento en el cual se comenzó a ofrecer alimento balanceado comercial (49.4 % de proteína y 4.1 % de grasa) durante el día y *Artemia franciscana* viva (nauplio) durante la noche.

### **3.4.-CALIDAD DEL AGUA**

Con el fin de mantener la calidad de agua adecuada, se realizaron recambios de agua (50 %) semanales y se determinó el oxígeno, amonio, nitritos, pH, salinidad y temperatura. Estos parámetros fueron determinados por medio de un oxímetro marca YSI modelo 55 y un equipo de análisis portátil (HACH Company, USA) (ver cuadro 2 en resultados).

Las temperaturas, de 19, 21, 23, 25 y 27°C fueron controlados mediante el uso de aire acondicionado de ventana (de  $\frac{3}{4}$  de t de capacidad) y termostatos digitales los cuales fueron introducidos directamente en los tanques experimentales.

### **3.5.- MUESTREOS**

Con el fin de conocer el efecto de la temperatura y el fotoperíodo en el crecimiento se realizaron biometrías tomando peso y longitud total de 20 larvas por replica de cada tratamiento de los experimentos de fotoperíodo y temperatura, en total fueron 60 larvas por tratamiento muestreadas a los 15, 30, 45, 60, 75, 90 dpe. Donde 15 peces de cada réplica fueron regresados vivos al sistema y los otros 5 peces restantes fueron sacrificados para histología. La proporción sexual se determinó por cortes histológicos y al final del experimento (90 dpe) la parte restante de peces (gónadas), fue observada en squash fresco utilizando un microscopio óptico (10X). Los cortes histológicos y la tinción de las muestras fueron realizados en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Unidad Mazatlan. Las muestras fueron preparadas y fijadas en solución de Bouin's y deshidratadas en alcohol al 70 % en el laboratorio. Los pesos de los peces fueron medidos por una

balanza analítica con mínimos y máximos de 0.1mg-151g, Marca Denver Instrument modelo APX-200, E.U. y la longitud total fue medida por un vernier e ictiometro

### **3.6.- ANÁLISIS PROXIMALES**

Se realizaron análisis proximales a los peces tratados con diferentes fotoperíodos con la finalidad de conocer si existía diferencia en su composición. Utilizando el método de Weende (Olvera *et al.*, 1993; A.O.A.C., 2000), en el cual se determina el contenido de humedad, proteína cruda, lípidos crudos, ceniza y por diferencia el extracto libre de Nitrógeno. Al final del experimento (90 dpe) se tomo 1 organismo completo de cada replica (3 peces por tratamiento) los fotoperíodo 6L:6D, 12L:12D .

#### **3.6.1. Humedad**

La cantidad de agua presente en la muestra, medida como el porcentaje de humedad se determinó por deshidratación de la muestra en estufa a 105 °C (Fisher Scientific, 750F, E.U) por 12 horas. La diferencia de peso de la muestra antes y después de pasar por la estufa y mantenerse en un desecador hasta enfriarla manteniendo un peso constante y con ello se determina su contenido de humedad (Olvera *et al.*, 1993; A.O.A.C., 2000).

Calculo: Contenido de humedad (%) =  $[(A-B)/A]*100$

Donde: A = Peso de la muestra húmeda (g).

B= Peso de la muestra seca (g).

### 3.6.2.- Proteína cruda.

Se conoce como análisis de proteína cruda, al análisis para evaluar el contenido de nitrógeno total proteínico en la muestra. Este se determinó mediante el uso de un auto-analizador Nitrógeno/Proteína (LECO, FP528, Suecia) por medio de la técnica de Dumas (conductividad de gases) utilizando helio como referencia y multiplicado el resultado por factor 6.25 para conocer la concentración de proteína (Olvera *et al.*, 1993, A.O.A, C., 2000)

### 3.6.3.- Extracto etéreo

El extracto etéreo corresponde al contenido de lípidos en la muestra y se determino con el equipo Soxtec Avanti, 2050, Suecia (A.O.A, C., 2000), utilizando éter de petróleo como solvente.

Cálculo: Contenido de lípidos (%) =  $[(B-A)/C]*100$

Donde: A= Peso del dedal limpio y seco (g),

B = Peso del dedal con grasa (g).

C= Peso de la muestra (g)

### 3.6.4. Cenizas

El contenido de minerales totales o materiales inorgánicos de la muestra se determinaron por calcinación de la muestra en la mufla a 550°C por 12 horas (Olvera *et al.*, 1993, A.O.A, C., 2000)

Cálculo: Contenido de cenizas =  $100 \% \{[(A-B)/C]*100\}$

Donde: A= Peso del crisol con muestra (g)

B= Peso del crisol con ceniza (g).

C=Peso de la muestra (g)

### **3.6.5.- Extracto libre de nitrógeno**

El extracto libre de nitrógeno se obtuvo sustrayendo a 100 la sumatoria de los valores porcentuales determinados por humedad, proteína, lípidos y cenizas de la muestra (Olvera *et al.*, 1993, A.O.A.C., 2000).

Cálculo: Extracto libre de nitrógeno (%) =  $100 - (A+B+C+D)$ .

Donde: A = Contenido de humedad (%).

B = Contenido de proteína cruda (%).

C = Contenidos de extracto etéreo (%)

D = Contenido de ceniza (%)

### **3.7.-ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA de una vía y las diferencias entre medias fueron evaluadas con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ , mediante el paquete estadístico de SAS versión 9.0.

#### 4.- RESULTADOS

En la cuadro 2 se muestra los valores promedios obtenidos para la calidad del agua durante el desarrollo del cultivo de las larvas de pez blanco (*M. estor*), los cuales se mantuvieron estables para el cultivo de esta especie (Martínez-Palacios *et al.*, 2002a)

**Cuadro 2. Parámetros fisicoquímicos del agua del sistema experimental**

<b>PARAMETROS</b>	<b>PROMEDIO</b>
Oxígeno Disuelto (mg/l)	6.65 ± 0.6
pH	7.6 ± 0.2
Amonio Total (mg/l)	No detectable
Nitritos (mg/l)	No detectable
Intensidad de luz	370 lx

El oxígeno fue determinado por medio de un oxímetro marca YSI modelo 55, el pH, amonio total y nitritos fueron determinados por un equipo de análisis portátil HACH Company, USA y la intensidad de la luz por un fotómetro digital modelo YF-170 marca YFE.

#### 4.1.-Experimento 1 (Fotoperíodos)

##### 4.1.1.- Supervivencia

En la Figura 11 se presenta el porcentaje de supervivencia de larvas, donde el mejor tratamiento fue el de luz continua (24L:0D) con un 51% mientras que la mas baja supervivencia se encontró en el tratamiento 6L:6D el cual presenta diferencia significativa entre 12L:12D y luz continua. Además, se observó que la mayor

mortalidad de esta especie se registró en los primeros 30 días sin haber diferencia significativa entre tratamientos.

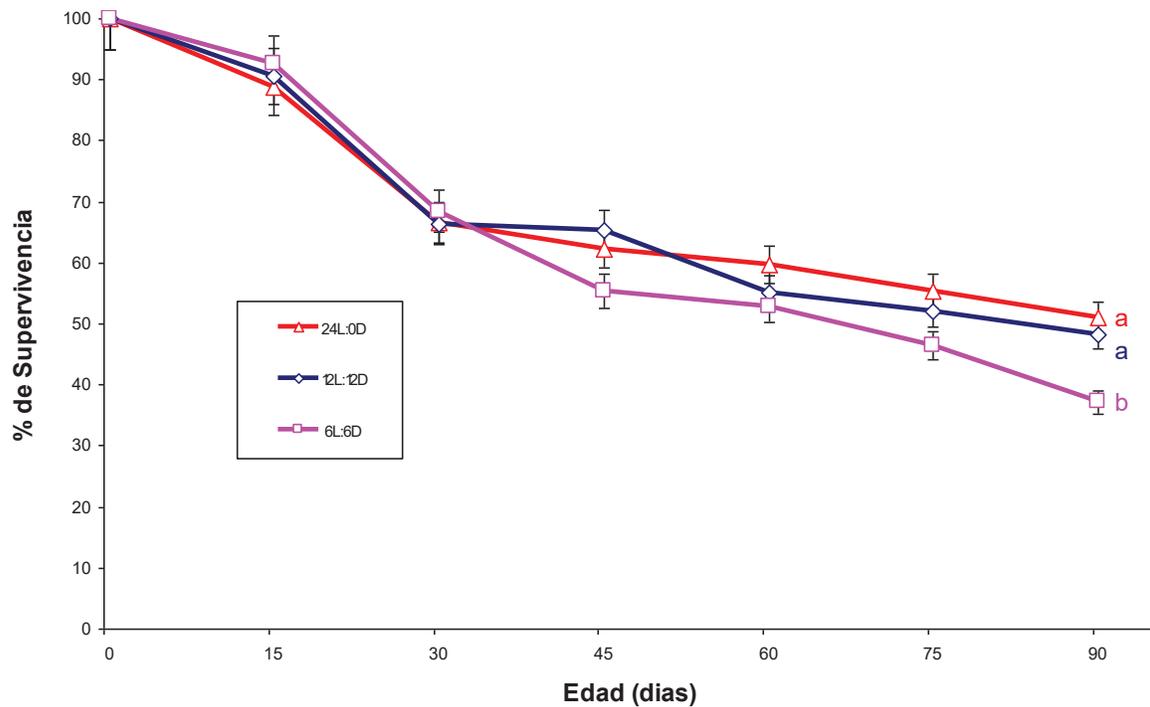


Figura 11. Porcentaje de supervivencia en *Menidia estor* en tres diferentes fotoperíodos. Letras diferentes presentan diferencia significativa ( $P > 0.05$ ).

#### 4.1.2.- Crecimiento

En este estudio, los peces del tratamiento que presentó mayor incremento de peso fué el de luz continua (24L:0D) con un peso final de 380.8 mg, el cual es significativamente mayor al control con un peso 264.9 mg. Las larvas mantenidas en

fotoperíodos de 24L:0D aumentaron su peso en un 42% a los 90 dpe con respecto al control y un 69.60% con respecto al tratamiento de 6L:6D (Fig. 12).

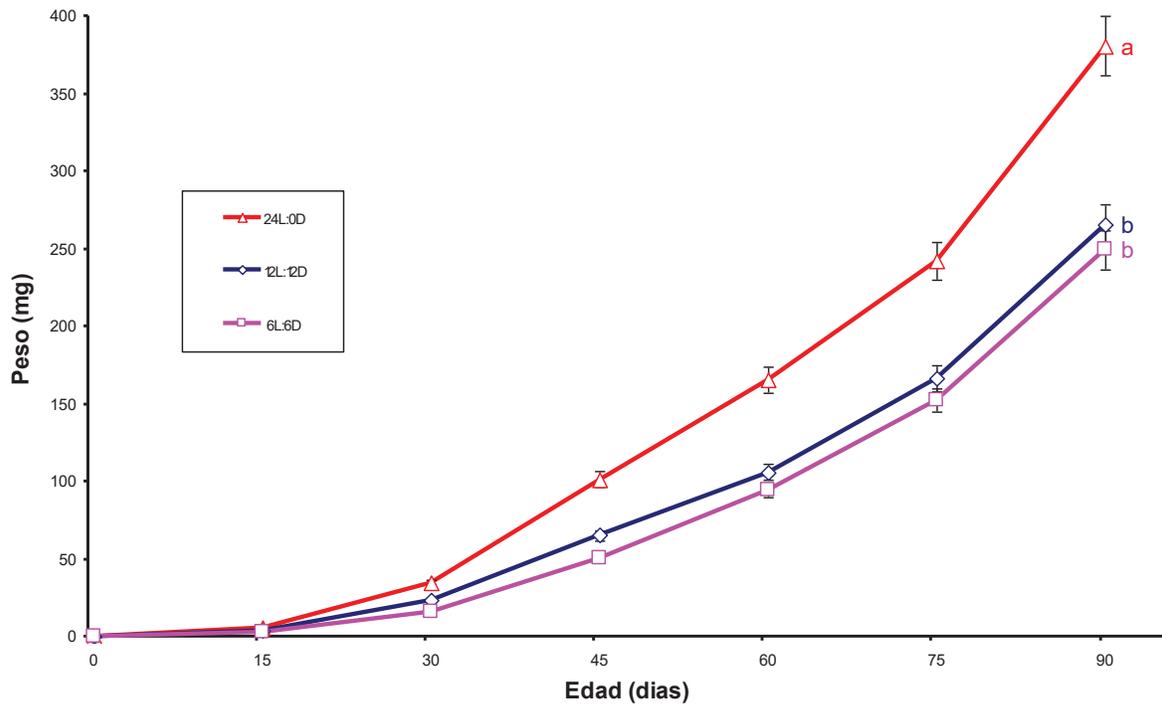


Figura 12. Crecimiento en peso (mg) de larvas de *Menidia estor* en tres fotoperíodos a temperatura de 25°C (24L:0D, 6L:6D, 12L:12D) a lo largo de 90 dpe. Letras diferentes significan diferencia significativa ( $P > 0.05$ )  $n = 60$ .

El crecimiento en longitud total mantuvo un patrón similar al del peso. Los resultados mostraron que las larvas expuestas al fotoperíodo de luz continua (41.32mm) fueron significativamente mayor que aquellos peces del resto de los tratamientos. El incremento en longitud fue de 12.87% más en los organismos expuestos a 24L:0D que en los peces del tratamiento de 12L:12D (36.61mm) y 15.30% más que los del tratamiento 6L:6D (35.84mm) (Fig. 13).

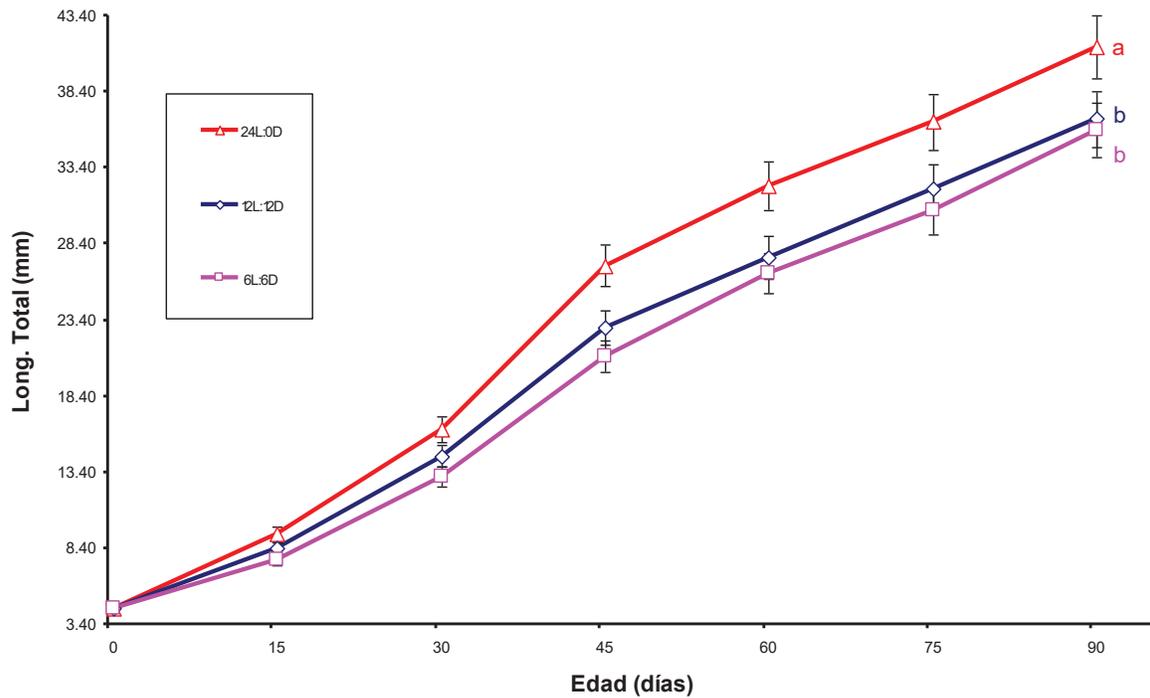


Figura 13. Crecimiento en longitud total (mm) de larvas de *Menidia estor* en tres fotoperíodos a una temperatura de 25°C (24HL, 6L:6D, 12L:12D) a 90 dpe. Letras diferentes presentan diferencia significativa ( $P>0.05$ )  $n=60$ .

#### 4.1.3.- Análisis proximal

Los resultados de los análisis proximales mostraron diferencias entre los organismos cultivados con diferentes fotoperíodos. Para el uso del porcentaje de las grasas, en el tratamiento de luz continua los peces presentaron un valor de 2.84% significativamente mayor a los tratamientos 12L:12D y 6L:6D con 2.14 % y 1.8% respectivamente. Sin embargo, se observa una reducción significativa en el porcentaje de proteínas respecto a los tratamientos 6L:6D (cuadro 3).

**Cuadro 3. Análisis proximales de *Menidia* estor crecidos a diferentes fotoperíodos.**

<b>FOTOPERÍODOS</b>	<b>24L:0D</b>	<b>12L:12D</b>	<b>6L:6D</b>
Humedad (%)	77.71±0.1	78.68±0.2	78.66±0.13
Proteína (%)	15.06±0.1 <sup>b</sup>	15.14±0.09 <sup>ab</sup>	15.44±0.05 <sup>a</sup>
Ceniza (%)	2.81±0.12	2.68±0.11	2.82±0.08
Grasa (%)	2.84±0.1 <sup>a</sup>	2.14±0.12 <sup>b</sup>	1.8±0.08 <sup>b</sup>
ELN (%)	1.58±0.09	1.36±0.11	1.28±0.09

Nota: Subíndices diferentes presentan diferencia significativa ( $P>0.05$ )  $n= 3$ .

## 4.2. Experimento 2 (Temperaturas)

### 4.2.1.-Supervivencia

La mejor supervivencia de larvas se presentó en 25°C (48%), si bien no existe diferencia significativa con los tratamientos 27, 23 y 21°C, solamente el tratamiento de 19°C registro baja supervivencia y es el único que presenta diferencia significativa respecto al resto de las temperaturas de 25, 27, 23°C (Fig. 14).

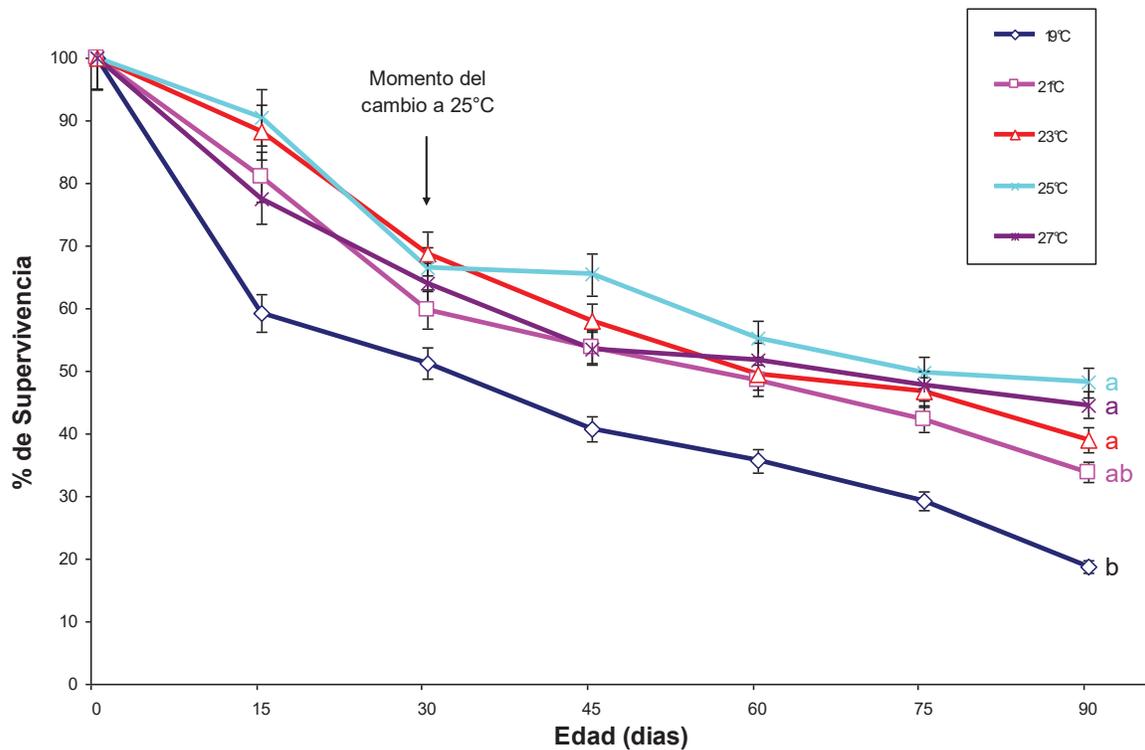


Figura 14. Porcentaje de supervivencia en *Menidia estor* a cinco diferentes temperaturas con un fotoperíodo de 12L:12D. Letras diferentes presentan diferencia significativa ( $P > 0.05$ )

#### 4.2.2. Crecimiento

Con la temperatura de 27°C, se logró el mayor peso (275.96 mg) a los 90 días, el cual no fue significativamente diferente de lo obtenido comparado con el grupo control 25°C (264.90 mg) ni con el tratamiento de 23°C (266.02 mg), pero sí del resto de los tratamientos 21 y 19°C (Fig. 15).

Los peces con mayor longitud se encontraron en el tratamiento 27°C (37.30mm) a los 90 días; sin embargo, la diferencia no fue significativa en relación a los tratamientos de 25°C (36.61mm) y de 23°C (36.42mm). Se encontró una diferencia significativa del resto de los tratamientos (21 y 19°C) (Fig. 16).

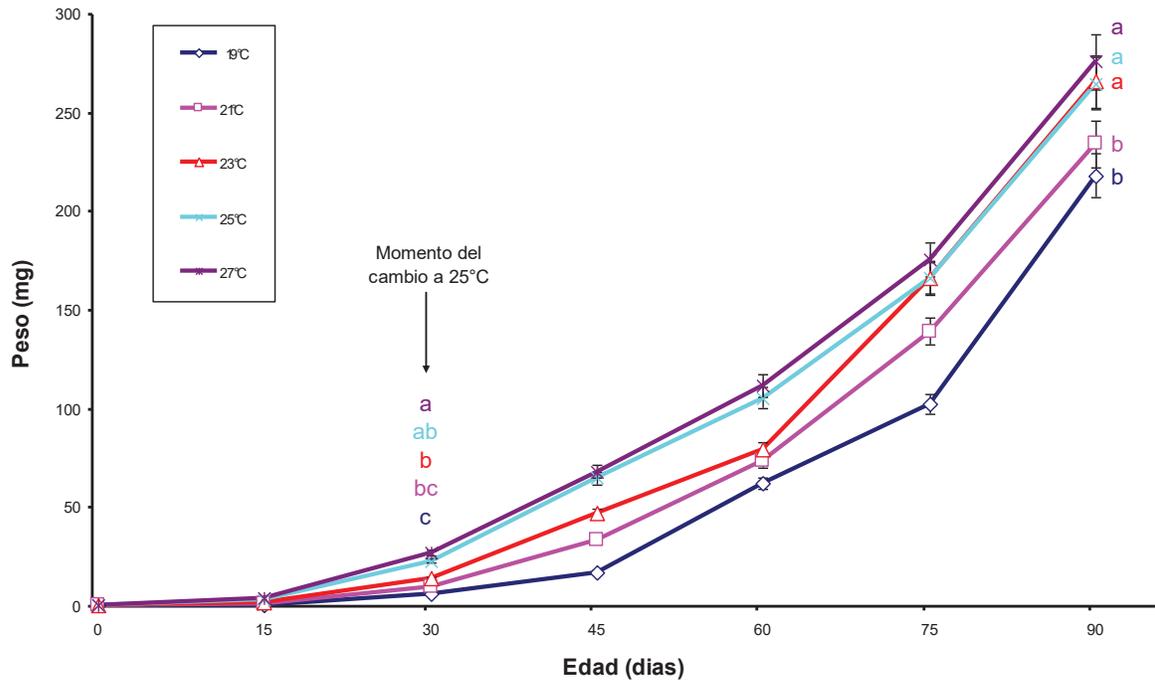


Figura 15. Crecimiento en peso de larvas de *Menidia estor* cinco diferentes Temperaturas 19, 21, 23, 25 y 27°C con un fotoperíodo 12L:12D. Letras diferentes significa diferencia significativa n=60.

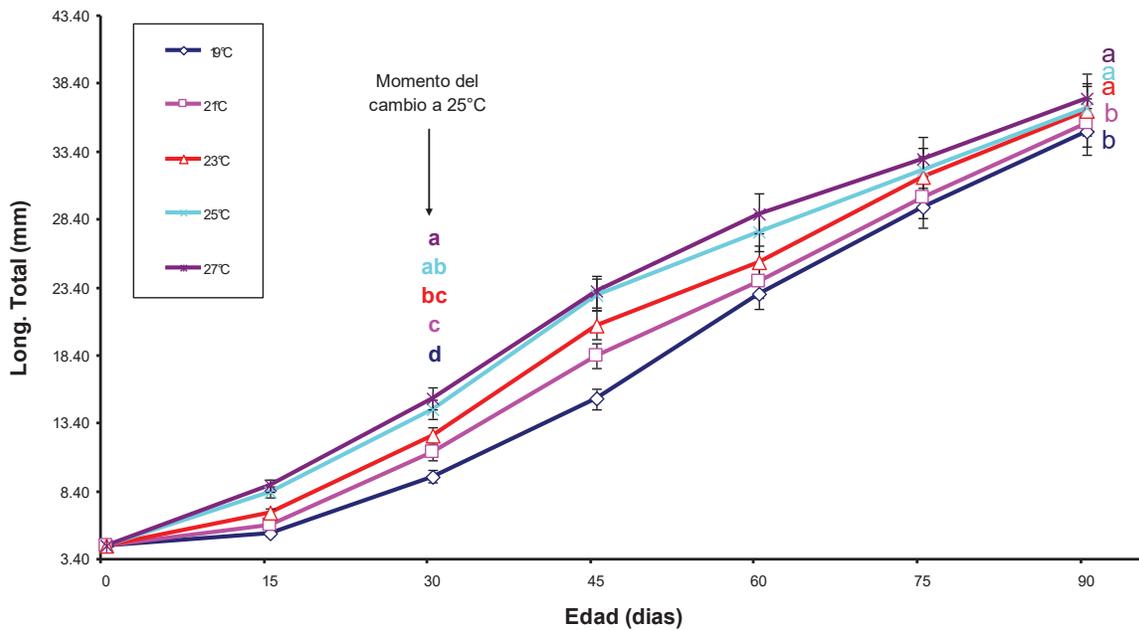


Figura 16. Crecimiento en Longitud total de larvas de *Menidia estor* cinco temperaturas y un fotoperíodo de 12L:12D (19, 21, 23, 25 y 27°C). Letras diferentes presentan diferencia significativa (P>0.05).

#### 4.2.3.- Proporción sexual por temperatura

La proporción sexual encontrada en *Menidia estor* en los distintos tratamientos de temperaturas utilizadas (19, 22, 23, 25 y 27°C) fué aproximadamente de 1:1 (hembras: machos) (Fig. 17).

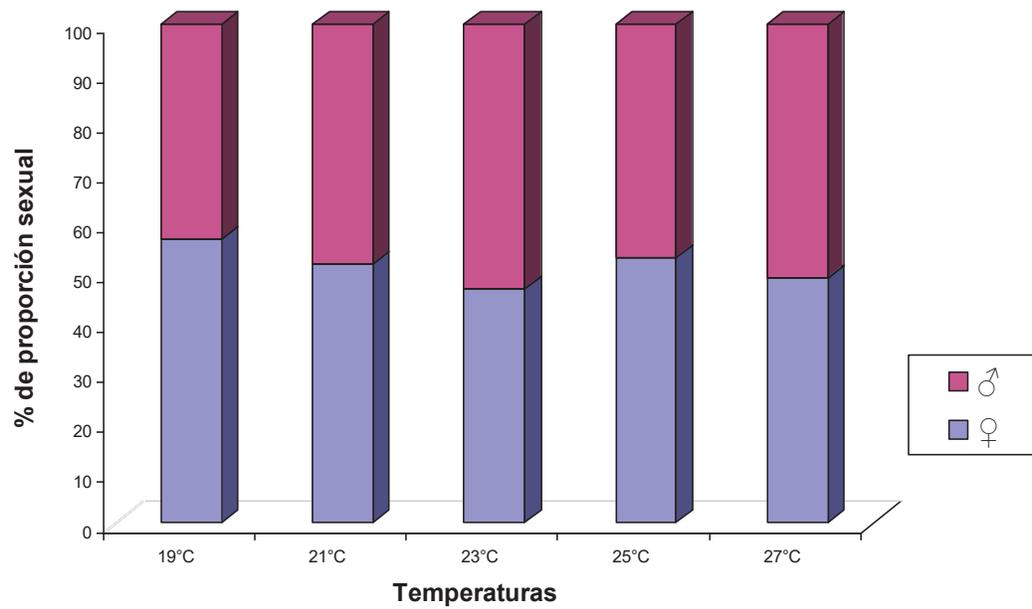


Figura 17. Porcentaje de la proporción sexual en *Menidia estor* expuestos a cinco temperaturas (19, 21, 23, 25 y 27°C) durante 90 post eclosión.

## 5.- DISCUSIÓN

El fotoperíodo es utilizado en la actualidad en la piscicultura mundial para estimular el crecimiento y la reproducción, y por razones de interés comercial son las especies marinas las más estudiadas hasta hoy. En particular, la trucha (*Onchorhynchus mykiss*), el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), el bacalao (*Gadus morhua*), la dorada (*Melanogrammus aeglefinus*) y la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Bromage *et al.*, 2001) son las más trabajadas. El fotoperíodo tiene un impacto en el crecimiento dependiendo éste de la etapa de desarrollo del pez, por ejemplo, se ha reportado que en tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) larvas de 0.02-1.24g son más sensibles que los juveniles de 2.33g–51.35g, por ello, es importante considerar las diferencias que puedan ocurrir entre especies (El-Sayed y Kawanna 2004).

Los resultados en el presente estudio indican que la respuesta observada de larvas de *M. estor* en luz continua (24L:0D) tuvieron significativamente mejor crecimiento y supervivencia desde los primeros 30 días hasta el final del estudio (90 dpe) en comparación con aquellos expuestos a periodos de luz cortos o periodos de luz intermedios (6L:6:D y 12L:12D ). La ganancia de peso (43%) y longitud (12.87%) fue mayor en los organismos expuestos a luz continua con respecto al tratamiento de 12L:12D. Estudios similares con luz continua y en edades tempranas con otras especies como el barramundi (*Lates calcarifer*), la tilapia (*Oreochromis niloticus*), la dorada (*Pagrus auratus*), han observado un importante incremento en el crecimiento (Barlow *et al.*, 1995; El-Sayed *et al.*, 2004; Rad *et al* 2006; Fielder *et al* 2002, Biswas *et al.*, 2005). Existen en la actualidad, al menos tres vías posibles mediante las cuales la luz continua puede mejorar el crecimiento: a) una mayor tasa de ingesta

alimenticia, b) disrupción endocrina de los ejes CHG y de crecimiento y c) estimulación directa de las fibras musculares (Imsland *et al.*, 1995; Duncan *et al.*, 1999; Oppedal *et al.*, 1999; Endal *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2003; Biswas y Takeuchi, 2003; Gines *et al.*, 2004; Biswas *et al.*, 2005; Rad *et al.*, 2006).

Muchas especies de peces durante algún período de su vida pueden estar sometidas a variaciones en la disponibilidad de alimento debido a diversas situaciones de tipo estacional, climáticas, por competencia alimentaria interespecífica o migraciones reproductivas (Vigliano *et al.*, 2002). Existe evidencia que el período circadiano en que el pez recibe o tiene acceso al alimento puede modificar los patrones de crecimiento, almacenamiento de lípidos y eficiencia en la conversión alimenticia (Spieler, 2000; Biswas *et al.*, 2005). La investigación realizada con juveniles del pámpano de florida (*Trachinotus carolinus*), donde dos grupos de peces se alimentaron a dos tiempos diferentes durante la fotofase, encontraron que esos animales demandaron significativamente más alimento durante las primeras dos horas de luz que durante las últimas dos horas de luz del día. Sin embargo, cuando se alimentaron solo en uno de aquellos dos tiempos, los animales alimentados durante las últimas dos horas de luz crecieron más (Heilman y Spieler 1999). Los resultados del estudio con dos grupos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), los cuales unos fueron alimentados al amanecer y otros al anochecer a raciones de alimentación de 0.9, 1.2 o 1.5% de su biomasa mostraron que los peces alimentados al amanecer logran incrementar un mayor porcentaje de grasa corporal que aquellos alimentados durante la noche (Boujard *et al.*, 1995). Para el caso de la lubina Europea (*Dicentrarchus labrax*) sometidos a luz continua y ciclos de luz/oscuridad durante 90 días, se probaron 3 diferentes contenidos lipídicos (bajo, medio y alto) en

la dieta suministrada se observó que los peces, regulan su consumo de alimento a saciedad, principalmente por el contenido energético de la dieta y en lo absoluto por el volumen de alimentación o la cantidad de proteína ingerida (Boujard *et al.*, 2000).

El crecimiento con luz continua lleva a un aumento de las fibras musculares (López-Albors *et al.* 2005). En el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) expuestos a luz continua durante 40 días, se logró un 70 % de aumento en la densidad de las células miogénicas progenitoras, en comparación con los peces expuestos a fotoperíodo natural (Johnston *et al.*, 2003). Este mismo autor menciona que los días cortos inhiben la proliferación de las células miogénicas progenitoras.

En el presente estudio, los peces del tratamiento de 6L:6D presentaron un menor desempeño en el crecimiento y supervivencia en comparación a luz continua y 12L:12D. Una posible explicación al respecto de lo que sucede en los fotoperíodos cortos (6L:6D) en este estudio es que los peces no logran establecer una buena ritmicidad endógena en tan pocos períodos de luz, creando una disrupción endocrina como se ha sugerido en otros estudios con tilapia del Nilo (Martínez-Chávez *et al.*, 2008; Biswas and Takeuchi, 2002; Biswas *et al.* 2002).

Respecto a los análisis proximales realizados a individuos de los distintos fotoperíodos al final de este estudio, se puede observar (cuadro 3) que los peces sometidos a luz continua contienen un porcentaje significativamente mayor de grasa que los individuos en los tratamientos 12:12 y 6L:6D. Además estos organismos tuvieron un porcentaje significativamente menor de proteínas que el tratamiento de 6L:6D. Como se ha mencionado anteriormente, existen diversos mecanismos fisiológicos que podrían estar involucrados en el aumento de crecimiento, así como en el aumento de grasas en el cuerpo. Por ejemplo, es posible que el metabolismo

de los peces reconozca el tratamiento luz continua como los días largos que se tienen en el verano en el medio natural; temporada en la cual el alimento es vasto y en donde se preparan para el invierno por medio de la acumulación antes mencionada. Otra posibilidad es que su gasto energético de los peces blancos sea menor en luz continua que en otros fotoperiodos 6L:6D donde se ha observado un mayor gasto de energía como en tilapia del Nilo (*O. niloticus*) (Biswas et al., 2002; Biswas y Takeuchi 2002). Estas sin embargo son sólo hipótesis y los mecanismos mediante los cuales ocurre esto deberán ser elucidados en estudios posteriores. Sin embargo la eficiencia alimenticia y el crecimiento, ocurre con un incremento de la temperatura la cual estimula la aceleración del metabolismo o la reducen (Wheaton, 1997). En el presente estudio, el mejor crecimiento (264.90 mg a 90 dpe) y supervivencia (48 %) fueron encontrados en el tratamiento de 25 grados, las temperaturas menores (17, 21 y 19°C) presentaron un bajo crecimiento y las temperatura de 27°C provocaron una menor supervivencia. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Martínez-Palacios *et al.*, 2004.

Las condiciones ambientales modulan no solo los mecanismos de determinación sexual, también los procesos primarios de diferenciación sexual (gónadas) (Strüssmann y Patiño, 1999). En peces gonocoristas el sexo es genéticamente determinado en la fertilización y es estable una vez establecido. Strussman y Patiño (1999), mencionan que la expresión de la Determinación Sexual por Temperatura (DST) y la Determinación Sexual Genotípica (DSG) en especies gonocoristas se ajustan dentro de cuatro patrones. I) La DST puede o no afectar en algunas especies, II) La DST tiene efecto a bajas temperaturas, III) La DST tiene

efecto sobre altas temperaturas y IV) La DST tiene efecto recíproco en bajas y altas temperaturas.

La proporción sexual en *Menidia estor* encontrada en este estudio fue de 1:1 (hembras:machos) en todos los tratamientos térmicos (19, 21, 23, 25 y 27°C) a las que las larvas fueron sometidas justo después de su eclosión. Estos resultados sugieren que a) no existe DST en esta especie o b) que el periodo termolábil de esta especie ocurre previo a la eclosión. Similares respuestas ocurren en el pejerrey *Odontesthes hatcheri* donde su proporción sexual es de 1:1 en larvas sometidas después de la eclosión a temperaturas de 18, 21 y 25 °C provenientes de una hembra y varios machos (1-5). No obstante, a través de un nuevo ensayo donde los huevecillos de una hembra y un macho de esta especie de pejerrey fueron sometidos a temperaturas de 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 se logró obtener un 83% de hembras a temperaturas bajas (13 y 15°C) por lo que en esta especie se sugiere que el sexo está determinada más genéticamente (Strussman *et al.*, 1996; Strussman *et al.*, 1997). En el caso de *Menidia menidia* otro atherinido, su estrategia es combinar las condiciones genéticas y ambientales (Temperatura). Ya que poblaciones de esta especie de manera natural su proporción sexual son arregladas o determinadas en disminución a la latitud. Típicamente, poblaciones norteafricanas (Nova Scotia) son marcadas como DSG, poblaciones sureñas (South Carolina) tienen marcado DST, en tanto que las poblaciones de las latitudes intermedias presentan una mezcla de DSG y DST (Conover y Henins, 1987a ; Strussman y Patiño, 1999).

En esta especie de pez blanco (*M. estor*) la diferenciación sexual puede estar dada de manera más temprana a etapa en que se llevaron a cabo los experimentos en este estudio. Es decir podría estar dada durante la embriogénesis o etapas

cercanas a esta después de la eclosión (Baroiller *et al.*, 1995; Strussman *et al.*, 1996, 1997; Blazquez *et al.*, 1998; Redding y Patiño, 2000), por lo que se recomienda en futuros estudios utilizar los tratamientos térmicos a edades más tempranas (desde fertilización).

Este trabajo soporta el beneficio del fotoperiodo para la piscicultura, especialmente, en cultivos intensivos Sin embargo, se requieren futuros estudios para complementar la información obtenida por este trabajo. Se sabe que la intensidad de la luz tiene un efecto importante en el crecimiento aunado a una luz continua. Es importante también realizar un nuevo experimento donde se puedan llevar ejemplares hasta un año de edad para complementar la información referente al crecimiento y si existe un efecto con respecto a su maduración. De los resultados obtenidos con respecto determinación sexual por temperatura se recomienda realizar un nuevo ensayo donde se apliquen temperaturas más extremas (17°C y 29°C) a partir de la fertilización del huevo para conocer si este atherinido presenta determinación sexual por temperatura. Estudios posteriores deberán tomar en cuenta estas y otras variables como el régimen alimenticio para hacer más eficiente el crecimiento en esta especie.

## 6.- CONCLUSIONES

- ✚ En el presente estudio se observó que la luz influencia directa o indirectamente en el crecimiento de larvas de pez blanco *Menidia estor*. En donde se encontró que periodos continuos de luz (24L:0D), permiten incrementar hasta un 43% el peso y en un 12.87% su longitud sin alterar los valores normales de supervivencia a los 90 días post-eclosión. Además, este mismo tratamiento modificó significativamente la composición corporal de los peces, en donde se encontró un mayor porcentaje de grasas que en los demás tratamientos. Esto se debe posiblemente a una estrategia de supervivencia con respecto a su consumo energético, lo cual deberá ser comprobado en estudios posteriores. Estos resultados son relevantes y permitirán eficientizar el cultivo de esta especie.
- ✚ Este estudio demuestra por otra parte que la determinación del sexo no es afectada por la temperatura durante los períodos de desarrollo incluidos en el presente trabajo, por lo que se deberá realizar posteriores estudios con edades más tempranas que permitan determinar la presencia de DST en esta especie en edades más tempranas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17 th Edition. Washington, E.U.A. Pgs. 1018.
- Amano, M., Iigo, M., Kazumasa, I., Kitamura, S., Yamada, H. y Yamamori, K. (2000). Roles of melatonin in gonadal maturation of underyearling precocious male Masu salmon. *General and Comparative Endocrinology* 120, 190-197.
- Balinsky, B. I. (1978). Introducción a la embriología. Barcelona, España. Omega S. A. (Ed.). Pgs.644.
- Barlow C. G., Pearce M. G., Rodgers L. J. y Clayton P. (1995). Effects of photoperiod on growth, survival and feeding periodicity of larval and juvenile barramundi *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture* 138:159-168.
- Baroiller JF, Chourrout D, Fostier A, Jalabert B. (1995). Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *J. Exp. Zool.* 273: 216-233.
- Baroiller JF, Guiguen Y, Fostier A. (1999). Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell Mol. Life Sci.* 55: 910-931.
- Baroiller J.F. y D'Cotta H. (2001). Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology.* 130: 399–409.
- Bastardo H. R. y Sofía B. S. (2003). Crecimiento de truchas todas hembras y de ambos sexos en un criadero venezolano. *Revista Zootecnia Tropical.* 21(1):17-26.

- Bayarri C. M. (2003). Papel de la melatonina y del órgano pineal en el control de los ritmos circadianos de la lubina. Repertorio de tesis doctorales. Área de Ciencias de la Vida. Clasificación: 240102. Pgs. 48.
- Bayarri, M.J., García-Allegue R., López-Olmeda J.F., Madrid J.A. y Sánchez-Vásquez F.J. (2004). Circadian melatonin release in vitro by European sea bass pineal. *Fish Physiology and Biochemistry* 30: 87–89
- Berrill, I.K., Porter, M.J.R., Smsart, A., Mitchell, D. y Bromage, N.R. (2003). Photoperiodic effects on precocious maturation, growth and smoltification in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 222: 239-252.
- Biswas A.K., Endo M., Takeuchi T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*: Part I. *Fish. Sci*, 68: 465–477.
- Biswas A.K., Takeuchi T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of fed and unfed adult tilapia *Oreochromis niloticus*: Part II. *Fish. Sci.* 68: 543–553.
- Biswas, A.K., Takeuchi, T., 2003. Effects of photoperiod and feeding interval on food intake and growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Fisheries Science* 69: 1010–1016.
- Biswas, A.K., Morita, T., Yoshizaki, G., Maita, M. y Takuchi, T. (2005). Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture* 243: 229-239.
- Blázquez M, Zanuy S, Carrillo M, Piferrer F. (1998). Effects of rearing temperature on sex differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *J. Exp. Zool.* 281: 207-216.

- Boujard, T., Gelineau, A. y Corraze, G., (1995). Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*. 26:341-349.
- Boujard T., G lineau A., Corraze G., Kaushik S., Gasset E., Coves D., Dutto G. (2000). Effect of dietary lipid content on circadian rhythm of feeding activity in European sea bass. *Physiology & Behavior* 68:683–689.
- Bromage, N., C. Randall, B. Davies, M. Thrush, J. Duston, M. Carrillo y S. Zanuy. (1993). Photoperiodism and the control of reproduction and development in farmed fish. En: *Aquaculture: Fundamentals and Applied Research*. B. Lahlou y P. Vitiello (eds.) American Geophysical Union. Washington, EE UU. pp 81-102.
- 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.
- Bull J.J. (1980). Sex determination in reptiles. *Quart. Rev. Biol.* 55: 3-21.
- Buxade C. (1997). Producción Animal Acuática. Zootecnia (Bases de Producción Animal). Artes Graficas Cuesta S.A. Madrid, España. Pgs. 230.
- Butella Llus a J. (1995). El ovario. Fisiología y Patología. Ediciones Días de Santos, S. A., Madrid, España. Pgs. 447.
- Carrillo M., Guerra A., Niell F. X., Peña J., Perez C. A., Roman G., Sarda F., Zanuy S. (1987). Reproducción en acuicultura. Plan de formación de técnicos superiores en acuicultura. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (editores). Industria graficas España, S. L. Pgs. 321.

- Carrillo M. y Zanuy S. (2003). Técnicas del control de la reproducción en los teleósteos. En acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción (Castelló Orvay F.). Ed. II. Universidad de Barcelona. España. pp 143-153.
- Carrillo M. y Zanuy S. (2003a). Fisiología de la reproducción de teleósteos. En acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción (Castelló Orvay F.). Ed. II. Universidad de Barcelona. España. pp 125-142.
- Caravaca R. F. P, Castel G. J. M., Guzmán G. J. L., Delgado P. M., Mena G. Y., Alcalde A. M. J. y González R. P. (2003). Bases de la producción animal. Rc. Impresores, S. C. A. España. Pgs. 512.
- Campos-Mendoza, A., McAndrew, B.J., Coward, K. y Bromage, N. (2004). Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. *Aquaculture* 231, 299-314.
- Comisión Nacional de Pesca. SAGARPA. (2006). Anuario estadístico de acuicultura y pesca. [www.conapesca.sagarpa.gob.mx](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx).
- Conover, D. O. y Kynard, B. E. 1981. Environmental sex Determination: Interaction of temperature and genotype in a fish. *Science*. 213:577-579.
- Conover DO, Fleisher MH. (1986). Temperature sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 514-520.
- Conover DO, Heins SW. (1987). The environmental and genetic components of sex ratio in *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). *Copeia*. 3: 132-143.
- Conover DO, Heins SW. (1987a). Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in fishes. *Nature*. 326: 496-498.
- D´Cotta, H., Fostier, A., Guiguen, Y., Govoroun, M. y Baroiller, J. F. (2001). Aromatase Plays a Key Role During Normal and Temperature-Induced Sex Differentiation of

Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Molecular Reproduction And Development*. 59:265-276.

Davie A. (2005). Effects de photoperiod manipulation on growth and reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua* L). Doctoral thesis. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling Scotland. Pags. 250.

Davie A., Mazorra C., Bromage B., Treasurer J., y Migaud H. (2007). Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods. *Aquaculture* 270, 379-389.

Davie, A., Porter, M.J.R., Bromage NR., y Migaud H. (2007a). The role of seasonally altering photoperiod in regulating physiology in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Parte II. Somatic growth. *Canadian Journal of fisheries and Aquatic Sciences* 64, 98-112.

Davies B, Randall CF y Bromage NR. (1992). Absolute daylength and the entrainment of an endogenous clock controlling reproduction in the female rainbow trout. *Aquaculture* 100 321-322.

Davies, B., Hannah, L.T., Randall, C.F., Bromage, N. y Williams, L.M. (1994). Central melatonin binding sites in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology* 96, 19-26.

Devlin. R.H y Nagahama Y.. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208. 191-394.

Donaldson E.M. (1996). Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science. Elsevier*, 42 (12): 381-392.

- Duncan N., Mitchell D. y Bromage, N. (1999). Post-smolt growth and maturation of out-season 0+ Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared under different photoperiods. *Aquaculture*. 177: 61-71.
- El-Sayed, A.-F.M. y Kawanna, M. (2004). Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia. I. growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. *Aquaculture*. 231: 393–402.
- Ekstrom P. y Meissl H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Rev. Biol. Fish.* 7:199-284.
- Ekstrom P. y Meissl H. (2003). Evolution of photosensory pineal organs in new light: the fate of neuroendocrine photoreceptors. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358: 1679–1700.
- Endal H. P., Taranger G. L., Stefansson S. O. y Hansen T. (2000). Effects of continuous additional light on growth and sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*, reared in sea cages. *Aquaculture*. 191: 337-349.
- Evans D. H. (1998). The physiology of fishes . 2a Edicion. Washington, D.C: CRC Press.
- Falcón, J. (1999). Cellular circadian clocks in the pineal. *Progress in Neurobiology* 58: 121-162.
- Falcón ,C. A., Besseau L., Fazzari D., Attia J., Gaildrat P., Beauchaud M., Boeuf G. (2003). Melatonin modulates secretion of growth hormone and prolactin by trout pituitary glands and cells in culture. *Endocrinology* doi:10.1210/0707.
- Fielder, D.S., Bardsley, W.J., Allan G. L., Pankhurst P.M. (2002). Effect of photoperiod on growth and survival of snapper *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture* 211. 135–150.

- Guerrero J. M., Carrillo-Vico A., y Lardone P. J. (2007). Melatonina. Investigación y ciencia. pp 30-38.
- González, C. A. (2003). Actividad citocromo P450 aromatasa en la lubina (*Dicentrarchus labrax* L.). Tesis doctoral. Universidad de Barcelona, España. Pgs. 226.
- Gines, R., Alfonso, J.M., Argüello, A., Zamorano, M.J., López, J.L., (2004). The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin color in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 35: 1207–1212.
- Heilman M. J. y Spieler R. E. (1999). The daily feeding rhythm to demand feeders and the effects of timed meal-feeding on the growth of juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture* 180(1-2): 53-64.
- Horvát, L., Tamás, G. & I. Tolú. (1984). Special methods in pond fish husbandry. Halver, J. (Ed.). Akademiai Kiadó. Halver Corporation, Seattle. Budapest. Pgs. 148.
- Hostache G., Pascal M. y Tessier C. (1995). Influence de la temperature de incubation sur le rapport male: femelle chez latipa, *Hoplosternum littorale* Hancock (1998). *Can. J. Zool.* 73: 1239-1246.
- Hunter GA, Donaldson EM. (1983). Hormonal sex control and its application to fish culture. En: *Fish Physiology, Reproduction*, vol. IX, Part B, (Hoar WS, Randall DJ).
- Imsland, A., Folkvord, A.F., Steffansson, S.O., (1995). Growth, oxygen consumption and activity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared under different temperatures and photoperiods. *Neth. J. Sea Res.* 34:149–159.
- Kissil G.W., Lupatsch I., Elizur A., Zohar Y. (2001) Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 200: 363–379.

- Jiménez L. F., Merchant, H. (2003). *Biología celular y molecular*. 1ª edición. Editorial Pearson Educación, S. A. de C. V. México. Pgs. 912.
- Jobling, M. (1994). *Fish bioenergetics*. Eds. Chapman & Hall, London. GB. Pgs. 309.
- Johnston, I. A., Manthri, S., Smart, A., Campbell, P., Nickell, D. y Alderson, R. (2003). Plasticity of muscle fibre number in seawater stages of Atlantic salmon in response to photoperiod manipulation. *J. Exp. Biol.* 206: 3425-3435.
- López-Albors O., Ayala M. D., García Alcázar A., Abdel I., Abellán E., Ramírez Zarzosa G., Gil, F. (2005). Revisión: desarrollo y crecimiento de la musculatura axial de la lubina *Dicentrarchus labrax* L. AN. VET. (Murcia) 21: 35-54.
- Martínez-Chávez C. C., Al-Khamees S., Campos-Mendoza A. Penman D. J. y migaud H. (2008). Clock-controlled endogenous melatonina rhythms in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture* 25(1):31-41.
- Martínez-Palacios, C.A., Barriga-Tovar, E., Taylor, J. F., Ríos-Durán, M. G., Ross, L. G., (2002a). Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. *Aquaculture*, 209: 369-377.
- Martínez-Palacios, C. A., Ríos-Durán, M. G., Campos M, A., Toledo C., M., Ross, L. G., (2002b). Avances en el cultivo del pescado blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor estor*. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México.
- Martínez-Palacios C. A., Comas Morte J, Tello-Ballinas J. A., Toledo-Cuevas M., Ross L. G. (2004). The effects of saline environments on survival and growth of eggs and larvae of *Chirostoma estor estor* Jordan 1879. (Pisces: Atherinidae). *Aquaculture* 238: 509-522.

- Martínez-Palacios, C. A., Ríos-Durán, M. G., Ambriz-Cervantes L., Jauncey K. J., Ross, L. G. (2007a). Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Menidia estor* Jordan 1879), a stomachless zooplanktophagous fish. *Aquaculture Nutrition* 13: 304-310.
- Martínez-Palacios, C. A., Chaves-Sosa J. C., Santoyo-Guzman V. O., Campos- Mendoza., Martínez-Chávez C. C. and Ross, L. G., (2007b). The effect of photoperiod on the production of *Chirostoma estor estor* Jordan 1879 from Lago de Pátzcuaro, México. *J. Appl. Ichthyol* (1-3).
- Martínez-Porchas M., Martínez-Córdova R.L., Ramos-Enríquez R. (2009). Dinámica del crecimiento de peces y crustáceos. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. Vol. 10, Nº 10. Pgs. 16.
- Morales, D. A. (1991). La Tilapia en México. Biología, cultivo y pesquerías. A. G. T. Editor S. A. México, D. F. Pgs.190.
- Muñoz-Cueto J. A. (2002).Control hormonal de la reproducción en peces. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz, España. Pgs. 54.
- Nakamura M, Kobayashi T, Chang X, Nagahama Y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J. Exp. Zool.* 281: 362-372.
- Núñez G. F.A. (2009). Fundamentos de crecimiento y evaluación animal. Transfford publishing. Victoria B:C: Canadá. Pgs. 20.
- Oliveira, C., Ortega, A., López-Olmeda, J.F., Vera, L.M. y Sánchez-Vázquez, F.J. (2007). Influence of constant light and darkness, light intensity and spectrum on plasma melatonin rhythms in Senegal sole. *Chronobiology International in press.*

- Olvera-Novoa M. A., Martínez-Palacios C. A., Real de León E. (1993). Manual de técnicas para laboratorio de Nutrición de Peces Y Crustáceos. Programa cooperativo gubernamental FAO-Italia, Proyecto Aquila II, Documento de campo No. 7, México. pp 375-385.
- Oppedal F. Taranger G. L., Juell J. E. y Hansen, T. (1999). Growth, osmorregulation and sexual maturation of underyearling Atlantic salmon smolt *Salmo salar* L. exposed to different intensities of continuous light in sea cages. *Aquaculture Research* 30:491-499.
- Ospina-Álvarez N. y Piferrer F (2008) Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited: Prevalence, a Single Sex Ratio Response Pattern, and Possible Effects of Climate Change. *PLoS ONE*. 3(7): pp 1-11.
- Paredes R. S. D. (2007).Efecto de la administración de melatonina y triptófano sobre los ritmos de actividad-reposo, función fagocítica y metabolismo oxidativo en *streptopelia risoria* modificaciones con la edad. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura, Facultad de ciencias, Departamento de fisiología. España. Pgs. 200.
- Patiño R., Davis K. B., Schoore J. E., Uguz C., Strussmann C. A., Parker N. C. (1996). Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature. *J. Exp. Zool.* 276: 2009-218.
- Pieau C. (1996). Temperature variation and sex determination in reptiles - *Bioessays* 18: 19-26.
- Piferrer F. (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*. 197: 229-281.

- Rad F., Bozaoglu S., Gözükar S. E., Karahan A., Kurt G. (2006). Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.). *Aquaculture* 255:292-300.
- Redding, J. M y Patiño, R. (2000). Reproductive systems. *In: The handbook of experimental animal. The laboratory fish. Academic press (Eds.)*. pp 261- 267.
- Ridha, M.T. y Cruz, E.M. (2000). Effect of light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. seed production. *Aquaculture Research* 31: 609-617.
- Ramos J., Rodriguez L., Zanuy S. y Carrillo M. (2002). Influencia del fotoperiodo sobre la aparición de la primera madurez sexual, comportamiento reproductivo y calidad de puestas en hembras de lubina. *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanografic*:18: 175-182.
- Rodriguez L., Zanuy S., Carrillo M. (2001). Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* 196:159-175.
- Rodriguez L., Begtashi I., Zanuy S., Carrillo M. 2005. Long-term exposure to continuous Light inhibits precocity in European male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.): hormonal aspects. *General and Comparative Endocrinology* 140:116-125.
- Saborido F. (2004). Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso doutoramento do bienio. Universidad de de Vigo, España. Pgs. 71.
- Sánchez-Vázquez F. J., Ligo M., Madrid J. A., Tabata M..(2000). Pinealectomy does not affect the entrainment to light nor the generation of the circadian demand-feeding rhythms of rainbow trout. *Physiology & Behavior* (69) 455–461

- Sánchez-Vázquez F.J. y Muñoz-Cueto, J.A. (2007). Papel del órgano pineal y la melatonina en la transducción de ciclos ambientales y la sincronización de los ritmos de reproducción en el lenguado. Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas SECF. Boletín informativo 9(2) 13-17.
- Schultz R. J. (1993) Genetic regulation of temperature-mediated sex ratios in the livebearing fish *Poeciliopsis lucida*. *Copeia*: 1148–115.
- Schulz R.W., Andersson E., Taranger G.L. (2006). Photoperiod manipulation can stimulate or inhibit pubertal testis maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Anim. Reprod.*, 3(2)121-126.
- Spieler, R. E. (2000). Revisión sobre ritmos circadianos, frecuencia de alimentación y crecimiento en peces. Avances en Nutrición Acuícola IV. pp 220-236 .
- Strüssmann C. A. (1989). Basic studies on seed production of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Doctoral Thesis, Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japon, Pgs. 351 .
- Strüssmann C. A. y R. Patiño. (1995). Temperature manipulation of sex. Differentiation in fish. In: F. Goetz and P. Thomas (eds). Proceedings of the fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of fish. [www.tcru.ttu.edu/pubs/patino/p142/temp.html](http://www.tcru.ttu.edu/pubs/patino/p142/temp.html).
- Strüssmann C. A., F. Takashima y K. Toda. (1996a). sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. *Aquaculture*, 139: 31-45.
- Strüssmann C. A., S. Moriyama, E. F. Hanke, J. C. Calsina y F. Takashima. (1996b). Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. *Journal of Fish Biology*, 48: 643-651.

- Strüssmann C. A., T. Saito, M. Usui, H. Yamada y F. Takashima. (1997). Heat-induced germ cell deficiency in the teleost *Odontesthes bonariensis* and *Patagonia hatchery*. *Comp.Biochem. physiol.* 119A (2) 637-644.
- Strüssmann, C.A., Saito, T. y Takashima, F. (1998). Heat-induced germ cell deficiency in the teleosts *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A: 637–644.
- Strüssmann C. A. y R. Patiño. (1999). Sex determination, Environmental. Encyclopedia of reproduction. Knobil and J. D. Neil (Eds). Vol. 4. pp 402-409.
- Strussmann C. A. (2006). Reproductive attributes and their implication for seed production and cultivation of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Tokyo University of Marine science and thechnology, Tokyo, Japan. 1a conferencia latinoamericana sobre cultivo de peces nativos. México.
- Tacon A. G. J. (1987). The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – a training 1. The essential nutrients. Food and Agriculture Organization of the United Nations brasilia, brazil. Pgs. 126.
- Taylor, J.F., Migaud, H., Porter, M.J.R. y Bromage, N.R. (2005). Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology* 142, 169-185.
- Taylor J.F.; North B.P.; Porter M.J.R.; Bromage N.R.; Migaud H. (2006). Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 256: 216–234.
- Vigliano F. E., Quiroga M. I., Nieto J. N. (2002). Metabolic adaptation to food deprivation and refeeding in fish. *Rev.ictiol.* 10 (1/2):79-108.

- Wootton, R. J. (1998). Ecology of teleost fishes. Second edition. Kluwer Academic Publishers. London. 386 pp.
- Wheaton, W. W. (1997). Acuacultura. AGT. Editor S. A. México. Pgs, 704.
- Yamamoto, E., (1995). Hirame no jiniteki sei togyo to kuron shudan sakushutsu ni kansuru kenkyu. Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in hirame flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bulletin of the Tottori Prefectural Fisheries Experimental Station. (34), 1–145, in Japanese; with English summary.
- Zachmann, A., Ali, M.A., y Falcón, J. (1992). Melatonin and its effects in fishes; An overview. In: Ali, M.A. (Ed.) *Rhythms in fishes*. pp 149- 165.