

Revisión Sobre Ritmos Circadianos, Frecuencia de Alimentación y Crecimiento en Peces

Richard E. Spieler

Nova Southeastern University Oceanographic Center
8000 N. Ocean Drive, Dania, Florida 33004, USA

Resumen

El ritmo circadiano de alimentación se refiere a la frecuencia diaria de alimentación relativa al fotoperíodo. Las variaciones en los tiempos de alimentación tienen efectos significativos sobre el crecimiento en una variedad de peces marinos y de agua dulce. Este trabajo discute: 1) los resultados de estudios de frecuencia de alimentación circadiana; 2) los mecanismos potenciales por los cuales las variaciones en la frecuencia de alimentación circadiana ofrecen respuestas diferenciales de crecimiento; 3) las implicaciones de frecuencia de alimentación circadiana para piscinas acuícolas; 4) líneas de investigación y problemas que deben ser abordados para establecer los regímenes alimenticios óptimos para peces.

Introducción

La frecuencia de alimentación circadiana, como se usó aquí, se refiere a las raciones alimenticias relacionados con el ciclo de luz-oscuridad dadas durante el día. La importancia potencial de la frecuencia de alimentación circadiana en nutrición de peces ha recibido una creciente atención, y a pesar de que ya ha habido algunas revisiones previas que tienen que ver, en cierto grado, con este tema (Spieler 1977, 1990, 1992b; Parker 1984; Boujard y Leatherland 1992; Boujard 1996) han pasado siete años desde la última revisión completa. Por lo menos la mitad de los estudios que examinan los efectos de la frecuencia de alimentación circadiana sobre el crecimiento en peces han ocurrido durante este intervalo (Tabla 1) y otras revisiones están garantizadas. El propósito de este trabajo es examinar la investigación actual sobre la alimentación circadiana y el crecimiento de peces en cultivo, con un enfoque principalmente hacia el potencial valor de la frecuencia de alimentación para acuicultura, y determinar la necesidad de futuras investigaciones, tanto básicas como aplicadas.

Una breve nota sobre terminología, "período de alimentación circadiana" ha sido varias veces referida en la literatura como: tiempo del día de alimentación, tiempo de alimentación, frecuencia diaria de alimentación, autoalimentación restringida por el tiempo, régimen de autoalimentación restrictivo, y período de alimentación. Sin embargo, todos los términos anteriormente referidos pueden ser engañosos, ya que cualquiera de ellos sugiere alguna importancia de una hora particular, la cual carece de una posición fija relacionada al ciclo diurno-nocturno (ej. tiempo de alimentación del día), o son equívocos entre el intervalo de

alimentación (ej. 30 min., 4h o semejante) y el tiempo cuando la alimentación se lleva cabo. Usando "período de alimentación circadiana" se evitará esta confusión.

Período de Alimentación Circadiana

Aunque los efectos del período de alimentación circadiana sobre el crecimiento han sido reportados previamente en mamíferos (Nelson, 1975), en peces aparentemente el primer reporte de este fenómeno fue una breve mención de un estudio preliminar realizado con la carpa de oro en la revisión de un artículo (Spieler 1977). De acuerdo a la revisión realizada se encontró que cuando menos se han desarrollado 22 trabajos sobre 12 especies de peces, incluyendo ciprinidos, silúridos, salmónidos, y percoideos (Tabla 1). Los períodos de alimentación circadiana son actualmente un área dinámica de investigación en acuicultura. La mayoría de los estudios referenciados en la Tabla 1 son recientes e incluyen resúmenes, comunicaciones personales y un manuscrito en prensa.

Los estudios sobre alimentación circadiana han sido realizados tanto a nivel de laboratorio como de campo, y típicamente consisten en grupos de peces alimentados una o varias veces al día con el mismo alimento, a diferentes tiempos durante el día. La dosificación de alimento ha sido de forma manual, automática y sobre demanda, y la ración ha sido restringida calóricamente (en donde los peces reciben idénticas cantidades de alimento por día), y no restringidas calóricamente (en donde los peces tienen ilimitado el acceso al alimento durante un intervalo específico de tiempo). En resumen, el período circadiano en que el pez recibe o tiene acceso al mismo alimento puede producir cambios significativos en: peso del cuerpo, longitud, almacenamiento de lípidos, tasa de crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia y crecimiento gonadal. Existen también estudios en los cuales no se observó ningún efecto del período de alimentación circadiana (Tabla 1). Sin embargo, estos estudios son la minoría y puede deberse, al menos en parte, a problemas en la metodología (ej. probando solamente de 2-4 tiempos de alimentación) o en la fase del sistema circadiano dentro de los animales experimentales (ver abajo).

Mecanismos Postulados

El mecanismo según el cual el ritmo circadiano de alimentación afecta o produce las diferencias en la tasa de crecimiento no ha sido elucidado. Sin embargo un número de hipótesis han sido propuestas.

Los peces, como otros animales, tienen un estilo de vida circadiano en general, como por ejemplo la actividad especie-específica, los ritmos de alimentación y de reproducción. Como sería de esperarse, la maquinaria integrativa y metabólica de estos organismos es por sí misma rítmica. (para referencias ver: Spieler 1990, 1992a). De esta manera, el medio interno del animal esta cambiando constantemente durante el día. Un tiempo(s) óptimo de alimentación circadiana puede ser simplemente cuando la alineación de los ritmos internos este en el mejor momento para los procesos e incorporación de materiales alimenticios para el crecimiento. En apoyo a esta hipótesis hay un gran número de literatura que reporta diferencias circadianas en respuesta a un estímulo del hospedero (ej. alimentación, manipuleo, hormonas, toxinas, drogas) (para referencias ver: Spieler 1990). Sin embargo, la alimentación *per se* también altera substancialmente el medio interno, incluyendo un arreglo

de variables circadianas tal como hormonas, neurotransmisores, nutrientes, enzimas, iones, etc. (para referencias ver: Boujard y Leatherland 1992; MacKenzie *et al.* 1998). Así que para que la alimentación produzca diferencias en el crecimiento por la interacción con diferentes fases circadianas del medio interno, el medio interno no debe de estar funcionando como un simple patrón bioquímico de ritmos fijos. Mas bien el medio interno debería ser receptivo para una alimentación específica involucrando alteraciones alimenticias específicas a tiempos circadianos.

Esta bien establecido que alimentando pueden entrar algunos pero no todos los ritmos circadianos endocrinos (Spieler 1992b). Por lo tanto la alimentación de animales a diferentes tiempos del día resultará en diferentes alineamientos de ritmos endocrinos. Debido a que el sistema endocrino puede tener interacciones sinérgicas, es posible entonces que se produzcan diferentes alineamientos difiriendo de posturas fisiológicas relativas a la ingestión del alimento (sinergismo temporal, *sensu* Meier 1984). Para sostener esta hipótesis se han realizado estudios donde, dependiendo del tiempo de alimentación circadiana, diferentes aspectos del ciclo de vida fueron mejorados (ej. crecimiento proteínico, lipogenesis, crecimiento gonadal) (Noeske *et al.* 1981; Noeske-Hallin *et al.* 1985; Kerdchuen y Legendre 1985; Pérez *et al.* 1988). Sin embargo, estos resultados son igualmente posibles debido simplemente a diferencias circadianas en la receptividad del medio interno para los efectos de alimentación (ver arriba).

Los peces tienen distintos ritmos circadianos de apetito (Tabla 2) y se ha sugerido que alimentando en el máximo de apetito se logra incrementar el crecimiento. Posiblemente estos picos de apetito ocurren al mismo tiempo en el que, como se supone, ocurre el pico de utilización óptima de alimento causado por cambios en el ritmo circadiano del medio interno, como se mencionó anteriormente. Esto ciertamente tendrá sentido desde la perspectiva de dinámica trófica, en donde el pez obtendrá un máximo beneficio del gasto energético de alimentación y procesamiento del alimento. O quizá esto simplemente sea debido a que los animales presentan un apetito mucho mayor en cierto momento(s) del día y por lo tanto consumen más hasta la saciedad a ese momento(s), lo cual se traduce en un incremento en el crecimiento. Como soporte de la suposición que los pocos circadianos de máximo apetito son los picos de tiempo de alimentación para obtener un máximo crecimiento, existen una serie de estudios que reportan que restringiendo el tiempo de alimentación al período de máximo apetito resulta un mejor crecimiento que alimentando a un período de menor apetito (Reddy *et al.* 1994; Boujard *et al.* 1995; Gélinau *et al.* 1996, 1998; Azzaydi *et al.* 1998). Sin embargo esos estudios, solamente examinaron un número limitado de tiempos de alimentación (dos a cuatro), los cuales son insuficientes para determinar con certeza un tiempo (s) absoluto de alimentación óptimo. Además, hay alguna evidencia que la respuesta de máximo crecimiento a la frecuencia de alimentación circadiana tampoco esta ligada a la acrofase del ritmo de apetito o el incremento concomitante en la alimentación. Hay varios estudios donde alimentando a los peces con las mismas cantidades de alimento a diferentes tiempos circadianos aún difieren del mismo crecimiento (Noeske *et al.* 1981; Baras *et al.* 1995; Heilman y Spieler en prensa). Heilman y Spieler (en prensa), trabajando con el juvenil *Florida pompano*, encontraron que esos animales se alimentaron durante la fotofase y demandaron significativamente mas alimento durante las primeras dos horas de luz que durante las últimas dos horas de luz. Sin embargo, cuando se alimentaron solo en uno de aquellos dos tiempos, los animales alimentados durante las últimas dos horas de luz crecieron más.

Debido a que la alimentación involucra actividad, es posible que la interacción entre los ritmos circadianos de alimentación, en alguna forma con los ritmos locomotores endógenos y que la alimentación a diferentes tiempos del día, cause diferentes cantidades de actividad diaria y un gasto de energía concomitante. Diversos estudios muestran, un mejor crecimiento de los peces cuando se alimentan durante, o directamente antes, del período donde ellos están normalmente menos activos (Noeske y Spieler 1984; Noeske-Hallin *et al.* 1985; Baras *et al.* 1995; Heilman y Spieler en prensa). Sin embargo, también hay estudios que muestran mucho mejor crecimiento cuando la alimentación ocurre durante la porción activa del ritmo locomotor (Noeske *et al.* 1981; Sundararaj *et al.* 1982; Hogendoorn 1981; 56 Boujard 1995; Boujard *et al.* 1995; Baras *et al.* 1996). En la mayoría de los casos la comparación entre ritmos locomotores y respuesta a la alimentación circadiana requiere estudios de comparación como aquellos pocos estudios llevados a cabo simultáneamente examinando la frecuencia de alimentación circadiana y ritmos de alimentación o actividad (Tabla 1). Dada la plasticidad de los ritmos en peces (ver abajo) las comparaciones entre los estudios están abiertos a cuestionamientos. También, contrariamente a la hipótesis de actividad diferencial, la frecuencia de alimentación circadiana provee un fuerte estímulo al ritmo locomotor. La carpa de oro, alimentada una vez diariamente, cambia la fase de su ritmo locomotor a el tiempo de alimentación circadiana a pesar del momento durante el cual se presenta el fotoperíodo de alimentación (Spieler y Noeske 1984; Sánchez-Vázquez *et al.* 1997). Otros estudios sobre diferentes especies mostraron un similar efecto de participación de la frecuencia de alimentación (para referencias ver: Spieler 1992b; Boujard y Leatherland 1992a). Por lo tanto en condiciones de cultivo (acuicultura) es posible que con cualquier régimen de alimentación circadiano la(s) alimentación(es) debiera tener una fase similar de relación con el ritmo locomotor. Además, Gélinau y otros (1998a) no muestran alguna diferencia en la utilización de oxígeno total diario en la trucha arcoiris alimentada a diferentes ritmos circadianos.

Reconociendo, debido a la existencia de datos que al menos en parte contradicen cada una de las hipótesis planteadas anteriormente, es posible que la existencia de algunos mecanismos no determinados, aún no postulados y examinados sobre la casualidad de los efectos de la frecuencia de alimentación circadiana. Sin embargo, debido a que ninguna de estas hipótesis son mutuamente exclusivas y a la existencia de datos que apoyan a cada una de ellas, es por lo tanto más probable que mecanismos múltiples estén involucrados producir los efectos de la alimentación circadiana. El papel de futuras investigaciones será el determinar cual es la más importante desde una perspectiva de acuicultura.

Potencial de la frecuencia de alimentación circadiana para la acuicultura

A pesar del mecanismo(s) involucrado, la mayoría de los estudios sobre alimentación circadiana y ritmos de alimentación de cultivos de peces (Tablas 1 y 2) discuten el potencial obvio de la frecuencia de alimentación circadiana para acuicultura. Se han notado cinco áreas de beneficio potencial:

- 1) El alimento representa el costo mayor de operación en acuicultura. Por lo tanto, alimentando a los tiempos circadianos óptimos se podría reducir significativamente el costo implicado en el cultivo de peces, ya que se reduciría la tasa de conversión alimenticia.

2) Debido a que la alimentación circadiana puede afectar diferentes variables fisiológicas asociadas con el ciclo de vida (ej. reproducción y lipogénesis), esto puede ofrecer un método para ganar algún control sobre el ciclo de vida. Por ejemplo, alimentando peces a un tiempo circadiano el cual mejora la lipogénesis dentro del almacén abdominal de grasa, no resulta ser una práctica económicamente efectiva ya que este tejido es removido cuando el pez es limpiado. Sin embargo, tal tiempo de alimentación debería ser bien situado para preparar el pez para el invierno (Ej. reproductores).

3) La alimentación de peces a tiempos circadianos correlacionados con los cambios estacionales en apetito suele reducir el desperdicio de alimento y disminuir la contaminación del agua.

4) En algunas especies, los cambios circadianos en el apetito parecen estar correlacionados con los cambios en la disponibilidad del alimento y presiones depredatorias en la naturaleza. Por lo tanto, para facilitar la transición, los peces que van a ser cultivados, deberían ser alimentados con un ritmo circadiano, similar al de las poblaciones con las cuales estarán.

5) El tiempo de alimentación circadiana debe ser tomado en cuenta en estudios nutricionales cuando se comparan dietas. Cuando en una investigación se alimenta con la misma ración y la misma dieta para los mismos peces, se deben obtener resultados significativamente diferentes en crecimiento dependiendo de cuando los animales son alimentados, y esto debería hacer comparaciones acertadas entre estudios difíciles.

Problemas en la determinación de la óptima frecuencia de alimentación circadiana

A pesar de que parece claro que la frecuencia de alimentación circadiana tiene importantes implicaciones para la acuicultura, se puede argumentar que un régimen alimenticio óptimo está aun por establecerse para todas las especies. Una breve investigación de las tablas 1 y 2 rápidamente indica que hay diferencias sustantivas en los resultados entre estudios, como lo son el tiempo(s) óptimo de alimentación o de máximo apetito circadiano, incluyendo muchos estudios contradictorios donde no hay diferencias significativas en crecimiento dependiendo del tiempo de alimentación circadiana.

Algunas de esas diferencias en resultados son, sin duda metodológicas. Por ejemplo, los resultados de frecuencia de alimentación obtenidos en acuarios con flujo continuo de agua, donde el alimento no ingerido es rápidamente removido, contrario a la alimentación en estanques de cultivo sin flujo continuo de agua, donde el alimento no ingerido permanece y puede ser ingerido en otro momento además de que otras fuentes alimenticias están disponibles, con todo esto se puede anticipar grandes diferencias. Los estudios usando una luz natural o luz atenuada podrían producir resultados diferentes de uno usando la obscuridad total (Fraser *et al.* 1993). Es posible también que un animal pudiera responder de manera diferente con una alimentación calóricamente restringida que cuando se trata de una alimentación calóricamente no restringida, en donde en el primer caso se manifestará el tiempo óptimo para una eficiencia de alimentación y en el segundo caso el tiempo óptimo de apetito y la ingesta calórica mayor.

Sin embargo, en varias ocasiones el empleo de una metodología similar se han producido diferentes resultados utilizando la misma especie y ejecutados por los mismos investigadores. Todas las hipótesis sobre el mecanismo(s) implicado(s) en los efectos circadianos de la alimentación (arriba) dependen de la interacción del alimento con algunos aspectos de la fisiología circadiana de peces, como apetito, locomoción, endocrino u otros ritmos. Esta plasticidad de la fisiología circadiana de peces generalmente presenta los principales problemas para entender el mecanismo (s) de acción así como para elucidar un óptimo régimen alimenticio circadiano para el cultivo de peces.

Los sistemas circadianos en peces no son fijos. Por ejemplo un pez identificado en un estudio como activamente diurno puede, no siempre ser activo durante la fotofase. Así que muchas de las diferencias entre estudios, de las mismas especies, se deben a diferentes alineamientos del tiempo de alimentación a algunos aspectos de fisiología circadiana. Los reportes iniciales evaluaron los cambios por fases estacionales en los ritmos locomotores de algunos peces de altas latitudes, en donde los animales tuvieron un comportamiento nocturno, diurno o crepuscular dependiendo de la época del año (Para referencias ver: Eriksson y van Veen 1980). Ahora es claro que los ritmos circadianos de peces, incluyendo especies templadas, cambiarían de fase, o estarían de otro modo alteradas, en respuesta a las variables del hospedero incluyendo estaciones, fotoperíodo, temperatura, ontogenia, alimentación circadiana, etc. (Para referencias ver: Spieler 1992a). El dualismo secuencial, que manifiesta un cambio estacional en ritmicidad, ha sido reportado para varios peces cultivados (ej. bagre de canal, Randolph y Clemens 1976; trucha arcoiris, Landless 1976; Salmón del Atlántico, Smith *et al.* 1993, Fraser *et al.* 1993; Lobina, Sánchez-Vázquez 1998). Peces que con alimentación nocturna durante el verano pueden convertirse durante el invierno en diurnos, esto es, alimentación diurna (Randolph y Clemens 1976) y aquellos de hábitos diurnos pueden volverse nocturnos (Landless 1976; Fraser *et al.* 1993; Sánchez-Vázquez 1998). A pesar de que hace tiempo se sabe que muchos peces reducen su ingesta de alimento durante los meses de baja temperatura de invierno, una fase concomitante de cambio en los ritmos de alimentación significa que no solo que la ración necesita ser cambiada estacionalmente así como también el tiempo de alimentación circadiana.

Si el dualismo secuencial fue la única fase cambiante en los ritmos circadianos encontrados en peces, esto realmente puede ser explicado por los cambios estacionales en el régimen de alimentación circadiana. Sin embargo existen reportes de diferencias potenciales en ritmos de apetito entre poblaciones (Thorpe y Cho 1995) indicando una dificultad en extrapolar datos desde un estudio específico sobre una especie o para diferentes ambientes acuícolas. Cada vez son mas confusos los reportes de las diferentes alimentaciones y ritmos de actividad de peces individuales bajo idénticas condiciones de cultivo (dualismo simultáneo) (ej., carpa de oro, ligo Y Tabata 1996; cabeza de toro café, Eriksson 1978; lobina, Sánchez-Vázquez 1995; Arctic char y trucha arcoiris, Alanära y Brännäs 1997; Brännäs y Alanära 1997; pargo, Tabata *et al.* 1997). Además, en varias especies se presentan aparentemente cambios de fase en la actividad no provocado (carpa de oro, ligo y Tabata 1996) o ritmos de demanda de alimentación (lobina, Sánchez-Vázquez 1995; pargo, Tabata *et al.* 1997, comunicación personal).

Al momento resulta difícil evaluar los problemas concurrentes al dualismo incrementado o sostenido por la alimentación circadiana bajo condiciones de cultivo.

En algunos peces (Kavaliers 1981; Spieler y Clougherty 1989; Boujard 1995), pero quizás no en todos (Brännäs y Alanärä 1997) existe un "efecto de imitación" (entraining effect) entre organismos conespecíficos del mismo tanque sobre la ritmicidad, así que los ritmos o la carencia de ellos, difieren dependiendo del número de animales en el grupo a evaluar. Boujard (1995) reportó que el bagre europeo mantenido solo tuvo una tendencia a ser arrítmico, mientras que peces mantenidos en grupos de 3 o más organismos presentaron un ritmo de alimentación nocturno distinto (84% de la demanda de alimento en la penumbra). Brännäs y Alanärä (1997) usaron etiquetas de transporte pasivo integrado (PIT) para registrar los ritmos alimenticios individuales de la trucha arcoiris mantenida en 8 grupos de 15 peces. Ellos encontraron que la mayoría de los peces exhibieron ritmos de alimentación diurna pero algunos (1-5/grupos) fueron nocturnos. Cuando los peces fueron separados en grupos de alimentadores nocturnos o diurnos, los peces mantuvieron el ritmo que tenían antes de la separación.

No es claro si estas diferencias individuales permanecerán en grupos de peces más grandes como los encontrados en situaciones de cultivo comercial. Los bajos coeficientes de variación (CV) reportados en algunos estudios sobre alimentación circadiana apoyan la idea de una "mutua imitación" (mutual entrainment) (Boujard *et al.* 1996; Azzaydi *et al.* 1998). La "imitación mutua" es también apoyada por una comparación de algunos estudios de demanda de alimentación llevados a cabo con lobina. Cuando estos peces fueron mantenidos de forma individual o en grupos de cuatro peces hubo una relación de 60:40 entre los que presentaron comportamiento nocturno contra los diurnos (Sánchez-Vázquez 1995) pero en grupos de 15 o más los animales son casi estrictamente alimentadores diurnos durante el verano (Begout-Anras 1995; Madrid *et al.* 1997). En un estudio llevado a cabo durante el invierno, hubo diferencias significativas en los ritmos de alimentación entre las réplicas de los grupos de lobina sin embargo esto no apoya ni contradice la posibilidad de una mutua imitación (Boujard *et al.* 1996). Además, a diferencia de la lobina, en otros estudios que reportan dualismo concurrente de ritmos locomotores o alimenticios, la mayoría de los peces tuvieron el mismo ritmo (ej. alimentación diurna) y solo relativamente pocos peces difirieron (Ej. alimentación nocturna) (Eriksson 1978; Iigo y Tabata 1996; Alanärä y Brännäs 1997; Brännäs y Alanärä 1997; Jobling *et al.* 1998). Sin embargo, si el dualismo concurrente existe en grandes grupos de peces, no es claro que tan importante es esto para la acuicultura comercial.

Conclusiones y Recomendaciones

Existe una cantidad sustancial trabajos realizados en los últimos diez años sobre la frecuencia de alimentación circadiana en acuicultura. A partir del trabajo con un par de especies realizado por un pequeño grupo de investigadores ahora ya contamos en al menos seis países con esfuerzos de investigación con varias especies. Hay poca duda acerca del potencial de los regímenes de alimentación circadiana para mejorar el crecimiento, pero se debe conocer mucho más para evaluar totalmente el futuro papel en la acuicultura comercial.

Desde una perspectiva de investigación, es necesario mucho más trabajo para definir el mecanismo(s) de acción y evaluar los problemas por el dualismo concurrente. Algunas de las preguntas importantes que necesitan ser discutidas se enuncian a continuación:

¿Es el punto máximo de apetito necesariamente el tiempo óptimo de alimentación? Los estudios que combinan la evaluación de los ritmos alimenticios y simultáneamente múltiples tiempos de alimentación deberían de ayudar a contestar esta pregunta. Esta es una pregunta crítica porque si los dos son lo mismo, esto debería simplificar la búsqueda de los tiempos óptimos de alimentación dentro y entre especies. Si el pico(s) de apetito máximo es el tiempo(s) de alimentación óptima todo lo que se requiere para establecer un régimen de alimentación circadiana podría ser el monitorear el patrón de alimentación endógena.

Asimismo, ¿cómo el ritmo locomotor se correlaciona con el tiempo(s) de alimentación óptimo? De nuevo, una relación fija debería ayudar en el establecimiento y mantenimiento de regímenes óptimos de alimentación.

¿Es el pico máximo de eficiencia de conversión el mismo que el pico máximo de crecimiento? Aquí es necesario estudios que investiguen diferencias entre alimentación saciedad contra alimentación restringida. Si los dos tiempos son diferentes, la selección del mejor tiempo de alimentación implicará consideraciones de costo alimenticio relacionados a la tasa de crecimiento.

¿Cual es la relación entre el tiempo óptimo de alimentación para ritmos endocrinos y otras variables metabólicas? Se requieren mas estudios correlativos. Idealmente, tales estudios están combinados con estudios de crecimiento, como algunos que se han hecho en el pasado (Carrillo *et al.* 1986; Pérez *et al.* 1988; Gélinau *et al.* 1996, 1998). Debido a la plasticidad de los ritmos del pez, realizar estudios sobre los efectos de la frecuencia de alimentación circadiana, puede ser inapropiado restringirse a tratamientos de frecuencia de alimentación para algún régimen circadiano óptimo obtenido de un estudio previo sin garantía, de que éste es el régimen óptimo en el estudio actual. Se necesitan entonces los resultados correlativos para ser examinados por estudios farmacológicos y determinar las causas. Además para comprender los mecanismos involucrados en efectos de alimentación circadianos, tales estudios deberían producir información para futuras intervenciones farmacológicas u otras manipulaciones para mejorar el crecimiento.

¿Cuales son los efectos del tiempo de alimentación circadiana sobre almacenamientos lipídicos mesentéricos y crecimiento gonadal? Tres estudios han reportado un tiempo de alimentación circadiana que mejora el almacenamiento de grasas mesentéricas y hay un reporte sobre la carpa de oro sobre el incremento en el crecimiento gonadal (Noeske *et al.* 1981; Noeske-Hallin *et al.* 1985; Pérez, *et al.* 1988; Kerdchuen y Legendre 1991). En todos los casos, el mejor tiempo de alimentación circadiana para crecimiento no fue el mismo tiempo de alimentación que mejoró la lipogenesis mesentérica o crecimiento gonadal. Estudios adicionales necesitan incluir el almacenamiento lipídico e índices de reproducción dentro de su diseño experimental, como en la mayoría de los casos esos materiales representan fuentes de desecho alimenticio para los acuacultores.

¿Que tan grande es el problema del dualismo concurrente para seleccionar los tiempos óptimos de alimentación circadiana? Estudios adicionales con poblaciones de peces, en número aproximados a los observados en acuicultura, conteniendo sub-poblaciones de peces con etiquetas PIT deberían ayudar a definir el problema. Si el dualismo concurrente se mantiene en ambientes típicos de acuicultura, la siguiente pregunta es: ¿son los sistemas circadianos de peces individuales genéticamente fijos? y de ser así, ¿pueden los reproductores ser seleccionados para producir un sistema circadiano consistente? Un sistema circadiano consistente en todo el lote debería determinar un tiempo óptimo de alimentación circadiana más fácilmente, y debería resultar en peces más uniformes a la cosecha.

¿El saciar el apetito es suficiente para el máximo crecimiento? Boujard y colaboradores (Boujard y Luquet 1996; Paspatis y Boujard 1996) han puntualizado que, en estudios de alimentación en los picos circadianos de apetito, el régimen alimenticio circadiano a menudo no produjo un crecimiento igual al máximo potencial de los animales. Se ha sugerido que para obtener el máximo crecimiento en peces puede requerir algunos estímulos adicionales (Ej. la presencia de alimento u alimentando con otros peces) para provocar la alimentación que se requiere para saciar el apetito. Esta es un área general para otras investigaciones.

Desde una perspectiva aplicada, a pesar de los avances recientes, la información sobre los tiempos de alimentación circadiana aún presentan un retraso considerable ante la necesidad de la acuicultura comercial. Los investigadores aún tienen que acercarse a un aceptable régimen alimenticio para una sola especie. Dado la plasticidad de los sistemas circadianos de peces puede ser que un único régimen alimenticio óptimo para una especie a lo largo de la condiciones ambientales de cultivo no sea posible y que, desde una perspectiva circadiana, cada etapa de cultivo es única y la frecuencia de alimentación necesitará ser adaptada a dicha etapa. En este punto, el acuicultor que desee tomar ventaja del uso de la frecuencia de alimentación circadiana será quien mejor aconsejado este para alimentar al tiempo(s) del máximo apetito de su lote. Aunque aún no esta claro si los tiempos de máximo apetito son necesariamente los tiempos de alimentación óptimos, hay suficientes datos que indican que esto es casi cierto y sobre todo que es mejor que elegir un tiempo de alimentación arbitrario.

Tabla 1. Estudios sobre ritmo circadiano de la frecuencia de alimentación y crecimiento en peces.

Especies	Tiempo Óptimo de Alimentación / °C	Tiempos de alimentación evaluados ¹	Ritmos de alimentación evaluados	Tamaño de alimento / índices de crecimiento que difieren entre los tiempos de alimentación	Referencia
Dorado <i>Carassius auratus</i>	L sobre +0 h L:O, 12:12	Seis	No	30 min, alimentación <i>ad lib.</i> / peso	Spieler 1977
	L sobre +4,8 h L:O, 12:12 / 10°	Seis	No	40 min, alimentación <i>ad lib.</i> / peso, longitud, condición, apetito, ovarios	Noeske <i>et al.</i> 1981
	L sobre +8 h L:O, 12:12 / 19°	Dos	No	0.4% peso org. (<5 min alimentación) / longitud	Spieler y Noeske 1981
	L sobre +18 h L:O, 12:12 / 14°	Cuatro	No	1% peso org. (<5 min alimentación) / peso, longitud, condición	Noeske y Spieler 1984
Carpa <i>Cyprinus carpio</i>	No hay diferencia L:O, 16:8 / 15°	Seis	No	2% peso org. (<5 min alimentación)	Noeske y Spieler 1984
Pirapatinga (Paca) <i>Piaractus brachipomus</i>	Penumbra L:O, 14:10 / 27°	Dos	No	7% peso org. sobre 12 h / promedio de la tasa de crecimiento, conversión alimenticia	Baras <i>et al.</i> 1996
Bagre Africano <i>Clarias lazera</i>	Penumbra L:O, 12:12 / 30°	Dos	No	10% peso org. / peso	Hogendoorn 1981
Bagre Africano <i>Heterobranchus longifilis</i>	Penumbra L:O, 12.5:11.5 / 26-29°	Dos	No	3% peso org. / peso, grasas almacenadas (incremento en peso por día de alimentación, incremento de grasas almacenadas por noche de alimentación)	Kerdchuen y Legendre 1991
Bagre de canal <i>Ictalurus punctatus</i>	L sobre +1.5 h L:O, 12:12 / 20°	Dos	No	2.5% peso org. (<3 min promedio) / peso, grasas almacenadas, longitud, conversión alimenticia (L sobre +10 h alimentación aumentada con grasas)	Noeske-Hallin <i>et al.</i> 1985
	No hay diferencia L:O, natural (May-Sept)	Tres	No	"a saciedad" (no se noto preferencia por tiempo de alimentación)	Robinson <i>et al.</i> 1995
Bagre de la India <i>Heteropneustes fossilis</i>	L sobre +14,16,22 h L:O, 12:12 / 25°	Seis	No	30 min alimentación <i>ad lib.</i> / ganancia en peso	Sundararaj <i>et al.</i> 1982

Continuación Tabla 1...

Trucha Arcoiris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Medio día, atardecer L:O, natural (L: 9-16) / 9-10°	Tres	No	0.5, 1.5, 2.0 or 2.5% peso org. in 15 min / peso	Reddy <i>et al.</i> 1994
Trucha Arcoiris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	L sobre +1 h L:O, natural (invierno) / 4-15°	Cuatro	No	0.9, 1.2, o 1.5% peso org. / peso, taza específica de crecimiento, conversión alimenticia, Lípidos totales	Boujard <i>et al.</i> 1995
	Amanecer L:O, natural (L: 7.5-12) / 5-12°	Dos	No	1.2 o 1.32% peso org. in 30 min / peso, índice de crecimiento diario, conversión alimenticia	Gélineau <i>et al.</i> 1996
	amanecer L:O, 14-10 / 15°	Dos	No	1% peso org. /eficacia de retención de proteína (no diferencia en ganancia en peso)	Gélineau <i>et al.</i> 1998
Lobina europea <i>Dicentrarchus labrax</i>	L sobre +7 h L:O, 15:9 / 22-28°	Dos	No	4-8% peso org. / longitud, condición, grasas almacenadas (grasa mas grandemente almacenadas a L sobre +2 h)	Carrillo <i>et al.</i> 1986, Pérez <i>et al.</i> 1988
	no diferencia L:D, natural (L: 14-16) / 17.5-22.8°	Cuatro	Si	4 h alimentación <i>ad lib.</i> (no hay diferencia reportada, sin embargo 16% de ganancia en peso en la alimentación de medio día en contra de la alimentación de noche del pez)	Boujard <i>et al.</i> 1996
	Penumbra L:D, natural (invierno)	Dos	Si	3 h / biomasa , tasa específica de crecimiento, conversión alimenticia	Azzaydi <i>et al.</i> 1998
Florida pompano <i>Trachinotus carolinus</i>	L sobre +12.5 h L:D, 15:9 / 27±1°	Dos	Si	4% peso org. sobre 2 h / peso, longitud, conversión alimenticia	Heilman y Spieler (en prensa)
Red porgy <i>Pagrus pagrus</i>	no diferencia L:D, natural (otoño)	Dos	Si	6 h, alimentación <i>ad lib.</i> (bajo crecimiento debido a la alta temperatura del agua)	Maragoudaki <i>et al.</i> 1997
Tilapia nilotica <i>Oreochromis niloticus</i>	L sobre +12.5 h L:D, 12:12 / 28°	Cuatro	no	≈ 6% peso org. / peso, conversión alimenticia	Baras <i>et al.</i> 1996

¹ Tiempos de alimentación, usados aquí en el mas amplio sentido (Por ejemplo. penumbra contra fotofase de alimentación), seleccionado para ilustrar las diferencias en respuesta circadiana. El diseño completo del experimento es a menudo mas complejo que como aparece en esta tabla, con tratamientos adicionales, múltiples alimentaciones por día etc.

Tabla 2. Ejemplos de ritmos de alimentación circadiana seleccionados por ellos mismos de cultivos de peces.

Especies	Tiempo de alimentación preferido	Fotoperiodo / Temperatura (C)	Referencias
Anguila japonesa <i>Anguilla japonica</i>	Penumbra	L:O, 12:12 / 13-15°	Hirata 1973
Dorado <i>Carassius auratus</i>	Fotofase	L:O, 12:12 + natural / 2-25°	Hirata 1973
Carpa Común <i>Cyprinus carpio</i>	Fotofase	L:O, 12:12 / 13-25°	Hirata 1973
	Penumbra (no se proveen datos)	L:O, 12:12 / 18.3-23.5°	Kryuchukov <i>et al.</i> 1984
Carpa plateada <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	0900-1100 + 1700-2100	L:O, natural (Junio-Agosto) / 17-29°	Wang <i>et al.</i> 1989
Brown bullhead <i>Ictalurus nebulosus</i>	Penumbra	L:O, 12:12; 16.8 / 23°	Eriksson y van Veen 1980
Bagre de canal <i>I. punctatus</i>	1800-2400 en verano, no hay diferencia en invierno	L:O, natural	Hastings <i>et al.</i> 1972
	Fotofase, Marzo Penumbra, Agosto	L:O, natural / 1-32°	Randolph y Clemens 1976
Bagre europeo <i>Silurus glanis</i>	Penumbra	L:O, 12:12 / 25°	Boujard 1995
Atipa <i>Hoplosternum littorale</i>	0200-0500	L:O, 13.5:10.5 L sobre 0545 / 28-30°	Boujard <i>et al.</i> 1990
Arctic char <i>Salvelinus alpinus</i>	Cuando inicia la luz + cuando termina la luz,	L:O, 12:12 / 10°	Linner y Brännäs 1994
	Cuando inicia la luz + cuando termina la luz., en ambos peces nocturnos y diurnos	L:O, 12:12 / 7°	Alanära y Brännäs 1997
Salmón del atlántico <i>Salmo salar</i>	Fotofase	L:O natural (L ≈ 17h) / 8-11°	Higgins y Talbot 1985
	Temprano en la mañana + temprano en la tarde	L:O, natural (Junio-Julio)	Kadri <i>et al.</i> 1991, (peces alimentados solamente en L)
	Fotofase a >10° Scotophase at <10°	L:O, 9:15, 12:12, Natural / 2-18.5°	Fraser <i>et al.</i> 1993 Fraser <i>et al.</i> 1995
	Fotofase	L:O natural (L 13.5-7) / 5-14°	Smith <i>et al.</i> 1993 (excepto un estudio de duración inespecífica, alimentado solamente en luz)
Salmón del atlántico <i>Salmo salar</i>	Temprano en la mañana + temprano en la tarde	L:O, 12:12 / 16°	Paspatis y Boujard 1996
	Medio día	L:O, 6.5:17.5-15:9 / 2.7-3.0°	Jobling <i>et al.</i> 1998 (alimentado solamente 1000-1200 y 2200-2400)
Trucha café <i>S. trutta</i>	atardecer + temprano en la mañana	L:O, 16.8: 7.2 / 16°	Neveu 1980
	Medio día	L:O, 6.5:17.5-15:9 / 2.7-3.0°	Jobling <i>et al.</i> 1998 (alimentado solamente 1000-1200 y 2200-2400)

Continuación Tabla 2...

Trucha arcoiris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fotofase o penumbra dependiendo de la estación	L:O natural / 5-11°	Landless 1976
	Fotofase (principalmente atardecer)	L:O 16:8, 12:12, 8:16 / 7-10°	Boujard <i>et al.</i> 1992, Boujard y Leatherland 1992b, c
	Fotofase o penumbra dependiendo de los peces individuales	L:O, 12:12 / 6-14°	Alanära y Brännäs 1997 Brännäs y Alanära 1997
Sea bass <i>Dicentrarchus labrax</i>	Fotofase (principalmente en el principio)	L:O, 12:12 / 14°	Sánchez-Vázquez y Tabata 1998 Carrillo <i>et al.</i> 1986
	Fotofase	L:O, natural (Junio- Octubre) / 7-26°	Begout-Anras 1995
	Fotofase o penumbra (el ritmo de alimentación puede invertirse espontáneamente o sin cambios en la disponibilidad del alimento o L:D)	L:O, 16:8 / 26.2-27.8°	Sánchez-Vázquez <i>et al.</i> 1994
		L:O, 12:12 / 23-24°	Sánchez-Vázquez <i>et al.</i> 1995a,b, 1997
		L:O, natural (14.5:9.5) / 24-7°	Madrid <i>et al.</i> 1997
		L:O, natural, (L 14.5-12.8) / 26.8-23.4°	Azzaydi <i>et al.</i> 1998
Red sea bream <i>Pagrus major</i>	Fotofase (cambio ontogénico)	L:O, 12:12 / 20-23°	Li <i>et al.</i> 1994
	Fotofase o penumbra o ambos (el ritmos de alimentación puede ser invertido con cambios en temperatura y L:D)	L:O, natural y simulado	Tabata <i>et al.</i> 1997 Tabata comunicacion personal
Red porgy <i>Pagrus pagrus</i>	0800-1000	L:O, natural	Maragoudaki <i>et al.</i> 1997
Tilapia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>	Fotofase (principalmente al comienzo y al final)	L:O, 12:12 / 27°	Toguyeni <i>et al.</i> 1997
Climbing perch <i>Anabas testudineus</i>	Fotofase	?? / 12 -37°	Patra 1993

Referencias:

- Alanärä, A. and Brännäs, E. 1997. Diurnal and nocturnal feeding activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54:2894-2900.
- Azzaydi, M., Madrid, J.A., Zamora, S., Sánchez-Vázquez, F.J, and Martínez, F.J. 1998. Effect of three feeding strategies (automatic, *ad libitum* demand-feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture 163:285-296.
- Azzaydi, M., Martínez, F.J., Zamora, S., Sánchez-Vázquez, F.J, and Madrid, J.A. 1998. Feeding European sea bass according to their "natural" feeding rhythms improves growth performance. 2nd COST Workshop on Voluntary Food Intake in Fish p.40 (abstract).
- Baras, E., Thoreau, X. and Melard, C. 1995. Influence of feeding time on growth and feed conversion rates in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. Cah. Ethol. Fondam. Appl. Anim. Hum. 15:71-80.
- Baras, E., Melard, C., Grignard, J. and Thoreau, X. 1996. Comparison of food conversion by Pirapatinga, *Piaractus brachypomus* under different feeding times. Prog. Fish-Cult. 58: 59-61.
- Begout-Anras, M.L. 1995. Demand-feeding behaviour of sea bass kept in ponds: diel and seasonal patterns, and influences of environmental factors. Aquaculture International. 3:186-195.
- Boujard, T. 1995. Diel rhythms of feeding activity in the European catfish, *Silurus glanis*. Physiol. Behav. 58: 641-645.
- Boujard, T. and Leatherland, J.F. 1992a. Circadian rhythms and feeding time in fishes. Environ. Biol. Fish. 35:109-131.
- Boujard, T. and Leatherland, J.F. 1992b. Demand-feeding behaviour and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. J. Fish Biol. 40:535-544.
- Boujard, T. and Leatherland, J.F. 1992c. Circadian pattern of hepatosomatic index, liver glycogen and lipid content, plasma non-esterified fatty acid, glucose, T3, T4, growth hormone and cortisol concentrations in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes and fed using demand-feeders. Fish Physiol. Biochem. 10:111-122.
- Boujard, T. and Luquet, P. 1996. Rythmes alimentaires et alimentation chez les Siluroidei. Aquat. Living Resour. 9:113-120.
- Boujard, T., Gelineau, A. and 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., Keith, P. and Luquet, P., 1990. Diel cycle in *Hoplosternum littorale* (Teleostei): evidence for synchronization of locomotor, air breathing and feeding activity by circadian alternation of light and dark. J. Fish Biol. 36:133-140.
- Boujard, T., Jourdan, M., Kentouri, M. and Divanach, P. 1996. Diel feeding activity and the effect of time-restricted self-feeding on growth and feed conversion in European sea bass. Aquaculture 139:117-127.
- Boujard, T., Dugy, X., Genner, D., Gosset, C. and Grig, G. 1992. Description of a modular, low cost, eater meter for the study of feeding behavior and food preferences in fish. Physiol. Behav. 52:1101-1106.
- Brännäs, E. and Alanärä, A. 1997. Is diel dualism in feeding activity influenced by competition between individuals? Can. J. Zool. 75:661-669. Carrillo, M., Pérez, J. and Zanuy, S. 1986. Effects of circadian feeding time and type of diet on the growth of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Inv. Pesq. 50:83-95.
- Eriksson, L-O. 1978. Nocturnalism versus diurnalism; dualism within fish individuals. In: J.E. Thorpe (Editor), Rhythmic Activity of Fishes. Academic Press. London, pp 69-89.
- Eriksson, L-O. and van Veen, T. 1980. Circadian rhythms in the brown bullhead *Ictalurus nebulosus* (Teleostei). Evidence for an endogenous rhythm in feeding, locomotor, and reaction time behaviour. Can. J. Zool. 58:1899-1907.
- Fraser, N.H.C., Metcalfe, N.B., and Thorpe, J.E. 1993. Temperature-dependent switch between diurnal and nocturnal foraging in salmon. Proc. R. Soc. Lond. B. 252:135-139.

- Fraser, N.H.C., Higgenes, J., Metcalfe, N.B. and Thorpe, J.E., 1995. Low summer temperatures cause Atlantic salmon to become nocturnal. *Can. J. Zool.* 73:446-451.
- Gélineau, A., Mambrini, M., Leatherland, J.F. and Boujard, T. 1996. Effect of feeding time on hepatic nucleic acid, plasma T3, T4, and GH concentrations in rainbow trout. *Physiol. Behav.* 59: 1061-1067.
- Gélineau, A., Médale, F. and Boujard, T. 1998. Effect of feeding time on postprandial nitrogen excretion and energy expenditure in rainbow trout. *J. Fish Biol.* 52:655-664.
- Hastings, W. H., Hinson, B., Tackett, D. and Simco, B. 1972. Monitoring channel catfish use of a demand feeder. *Prog. Fish Cult.* 34:204-206.
- Heilman, M.J. and Spieler, R.E. The daily feeding rhythm to demand feeders and the effects of timed meal-feeding on the growth of juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture* (in press).
- Hirata, H. 1973. Studies on the daily rhythm of feeding activity in fish, especially in goldfish, *Carassius auratus* (Linne). *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University* 22:1-48.
- Higgins, P.J. and Talbot, C. 1985. Growth and feeding in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*:L). In: C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (Editors), *Nutrition and Feeding in Fish*. Academic Press. London. pp. 243-263
- Hogendoorn, H. 1981. Controlled propagation of the African catfish, *Clarias lazera*. *Aquaculture* 24:123-131.
- Iigo, M. and Tabata, M. 1996. Circadian rhythms of locomotor activity in the goldfish *Carassius auratus*. *Physiol. Behavior.* 60:775-781.
- Jobling, M., Koskela, J. and Pirhonen, J. 1998. Feeding time, feed intake and growth of Baltic salmon, *Salmo salar*, and brown trout, *Salmo trutta*, reared in monoculture and duoculture at constant low temperature. *Aquaculture* 163: 73-84.
- Kadri, S., Metcalfe, N.B., Huntingford, F.A. and Thorpe, J.E. 1991. Daily feeding rhythms in Atlantic salmon in sea cages. *Aquaculture* 92:219-224.
- Kavaliers, M. 1981. Period lengthening and disruption of socially facilitated circadian activity rhythms of goldfish by lithium. *Physiol. Behav.* 27:625-628.
- Kryuchukov, V.I., Gireyev, N.M. and Tsonif, B.F. 1984. Age-related changes in the diurnal rhythm of locomotor activity of the mirror carp *Cyprinus carpio* (Cyprinidae). *J. Ichthyol.* 24:64-71.
- Kerdchuen, N. and Legendre, M. 1991. Effects of frequency and period of feeding on growth rate and feed efficiency of an African catfish, *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Clariidae). *Aquat. Living Resour.* 4:241-248.
- Landless, P.J. 1976. Demand-feeding behaviour of rainbow trout. *Aquaculture* 7:11-25.
- Li, D., Liu, X. and He, D. 1994. Feeding rhythm of *Pagrosomus major* during the early development stage. *Trop. Oceanol./Redai Haiyang.* 13:82-87.
- Linner, J. and Brännäs, E. 1994. Behavioral response to commercial food of different sizes and self-initiated food size selection by Arctic char. *Trans. Am. Fish. Soc.* 123:416-422.
- MacKenzie, D.S., VanPutte, C.M. and Leiner, K.A. 1998. Nutrient regulation of endocrine function in fish. *Aquaculture* 161:3-25.
- Madrid, J.A., Azzaydi, M. Zamora, S. and Sánchez-Vázquez, F.J. 1997. Continuous recording of uneaten food pellets and demand-feeding activity: a new approach to studying feeding rhythms in fish. *Physiol. Behav.* 62:689-695.
- Maragoudaki, D., Paspatis, M. and Kentouri, M. 1997. Response of 0+ *Pagrus pagrus* to restrictive self-feeding regime. 1st COST Workshop on Voluntary Food Intake in Fish. p.30 (abstract).
- Meier, A.H. 1984. Temporal synergism of circadian neuroendocrine oscillations regulates seasonal conditions in the gulf killifish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113:422-431.
- Nelson, W., Scheving, L. and Halberg, F. 1975. Circadian rhythms in mice fed a single daily meal at different stages of lighting regimen. *J. Nutr.* 105:171-184.
- Neveu, A., 1980. Relations entre le benthos, la derive, le rythme alimentaire et le taux de consommation de truites communes (*S. trutta* L.) en canal experimental. *Hydrobiologia* 76:217-228.
- Noeske, T.A., Erickson, D. and Spieler, R.E. 1981. The time of day goldfish receive a single daily meal affects growth. *J. World Maricult. Soc.*, 12:73-77.
- Noeske, T.A. and Spieler, R.E., 1984. Circadian feeding time affects growth of fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 113:540-544. Noeske-Hallin, T.A., Spieler, R.E., Parker, N.C. and Suttle, M.A. 1985. Feeding time differentially affects fattening and growth of channel catfish. *J. Nutr.*, 115:1228-1232.
- Parker, N.C. 1984. Chronobiologic approach to aquaculture. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113:545-552.

- Paspatis, M. and Boujard, T.**, 1996. A comparative study of automatic feeding and self-feeding in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets of different energy levels. *Aquaculture* 145:245-257.
- Pérez, J., Zanuy, S. and Carrillo, M.** 1988. Effects of diet and feeding time on daily variations in plasma insulin, hepatic c-AMP and other metabolites in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax* L. *Fish Physiol.Biochem.* 5:191-197.
- Patra, B.C.** 1993. Satiation time, appetite and daily pattern of food intake and faeces release by an air-breathing fish, *Anabas testudineus* (Bloch). *J. Aquacult. Trop.* 8:41-46.
- Randolph, K.N. and Clemens, H.P.** 1976. Some factors influencing the feeding behavior of channel catfish in culture ponds. *Trans. Am. Fish. Soc.* 6:718-724.
- Reddy, P.K., Leatherland, J.F., Khan, M.N. and Boujard, T.** 1994. Effect of the daily meal time on the growth of rainbow trout fed different ration levels. *Aquaculture International* 2:165-179.
- Robinson, E.H., Jackson, L.S., Li, M.H., Kingsbury, S.K. and Tucker, C.S.** 1995. Effect of time of feeding on growth of channel catfish. *J. World Aquaculture Soc.* 26:320-322.
- Sánchez-Vázquez, F.J. and Tabata, M.** 1998. Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout. *J. Fish Biol.* 52:255-267.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, F.J., Zamora, S. and Madrid, J.A.** 1994. Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behavior in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiol. Behav.* 56:789-794.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A. and Zamora, S.** 1995a. Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. *J. Biol. Rhythms* 10:256-266.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Zamora, S. and Madrid, J.A.** 1995b. Light-dark and food restriction cycles in sea bass: effect of conflicting zeitgebers on demand-feeding rhythms. *Physiol. Behav.* 58:705-714.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., Zamora, S. and Tabata, M.** 1997. Feeding entrainment of locomotor activity rhythms in the goldfish is mediated by a feeding-entrainable circadian oscillator. *J. Comp. Physiol. A* 181:121-132.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Azzaydi, M., Martínez, F.J., Zamora, S. and Madrid, J.A.** 1998. Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiol. Int.* (in press).
- Sánchez-Vázquez, F.J., Iigo, M., Madrid, J.A., Zamora, S. and Tabata, M.** 1997. Daily cycles in plasma and ocular melatonin in demand-fed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *J. Comp. Physiol. B.* 167:409-415.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., Zamora, S., Iigo, M. and Tabata, M.** 1996. Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. *Physiol. Behav.* 60:665-674.
- Smith, I.P., Metcalfe, N.B., Huntingford, F.A. and Kadri, S.** 1993. Daily and seasonal patterns in the feeding behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in a sea cage. *Aquaculture* 117:165-178.
- Spieler, R.E.** 1977. Diel and seasonal changes in response to stimuli: a plague and a promise for mariculture. *Proc. World Maricult. Soc.*, 8:865-882.
- Spieler, R.E.** 1990. Chronobiology and aquaculture: neglected opportunities. In: J. Pauly, R. Reiter and D. Hays (Editors), *Chronobiology: Its role in Clinical Medicine, General Biology, and Agriculture*, Part B. Wiley-Liss, New York, pp. 905-920.
- Spieler, R.E.** 1992a. Circadian rhythms in fishes and their implications for research. In: *The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research*. Schaeffer, D.O., Kleinow, K.M. and Krulisch, L. (Eds.) Scientists Center for Animal Welfare. Bethesda, MD. pp 161-166.
- Spieler, R.E.** 1992b. Feeding-entrained circadian rhythms in fishes. In: M.A. Ali (Editor), *Rhythms in Fishes*. Plenum Press. New York, pp 137-147.
- Spieler, R.E. and Clougherty, J.J.** 1989. Free-running locomotor rhythms of feeding-entrained goldfish. *Zool. Sci.* 6:813-816.
- Spieler, R.E. and Noeske, T.A.** 1981. Timing of a single daily meal and diel variations of serum thyroxine, triiodothyronine and cortisol in goldfish *Carassius auratus*. *Life Science* 28:2939-2944.
- Spieler, R.E. and Noeske, T.A.** 1984. Effects of photoperiod and feeding schedule on diel variations of locomotor activity, cortisol, and thyroxine in goldfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113:528-539.
- Sundararaj, B.I., Nath, P. and Halberg, F.** 1982. Circadian meal timing in relation to lighting schedule optimizes catfish body weight gain. *J. Nutr.*, 112:1085-1097.

- Tabata, M., Furukawa K.A. and Sánchez-Vázquez, F.J.** 1997. Dual phasing of demand-feeding rhythms in red sea bream, *Pagrus major*, kept under natural and laboratory conditions. *Chronobiol Int.* 14-S1:165 (abstract).
- Thorpe, J.E. and Cho, C.Y.** 1995. Minimising waste through bioenergetically and behaviourally based feeding strategies. *Wat. Sci. Tech.* 31:29-40.
- Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fostier, A., Kuhn, E.R., Mol, K.A. and Baroiller, J-F.** 1997. Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus*: effect of sex ratio and relationship with endocrine status. *Physiol. Behav.* 62:273-279.
- Wang, J-Q., Flickinger, S.A., Be, K., Liu, Y. and Hengwen, X.** 1989. Daily food consumption and feeding rhythm of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during fry to fingerling period. *Aquaculture* 83:73-79.