

Desarrollo de la retina en larvas de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae) bajo condiciones de cultivo

Development of the retina in spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae) larvae under culture conditions

R Peña*, S Dumas

Unidad Piloto de Maricultivos, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Av. Instituto Politécnico Nacional s/n Colonia Playa Palo de Santa Rita, La Paz, CP 23096, Baja California Sur, México. * E-mail: blacklarvae@hotmail.com

Resumen

Se describe el desarrollo de la retina en larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* bajo condiciones de cultivo, utilizando técnicas histológicas. El desarrollo de la retina en las larvas de la cabrilla arenera sigue un patrón previamente descrito para otras especies de teleósteos. Se observaron dos periodos de activa diferenciación. El primero ocurre durante la fase de alimentación endógena (desde la eclosión hasta el día 2 después de la eclosión) como una preparación hacia el inicio de la alimentación exógena. Durante este periodo, el ojo presentó un crecimiento alométrico negativo (coeficiente de crecimiento = 0.5). Al momento de la primera alimentación, el día 2, la longitud total (TL) de las larvas era de 2.58 ± 0.26 mm (media $\pm$ desviación estándar), el ojo presentó una capa de pigmento epitelial y conos sencillos como únicos fotorreceptores en la retina. En los días subsecuentes, el ojo presentó un crecimiento alométrico ligeramente positivo (coeficiente de crecimiento = 1.11). El segundo periodo ocurrió durante la transformación de las larvas a juveniles. Se observaron por primera vez presuntos conos dobles al día 14 (TL = 5.37 ± 0.58 mm) y presuntos bastones al día 22 (TL = 7.23 ± 0.99 mm). A partir de este día, el sistema visual está formado por una retina dúplex compuesta de conos y bastones como fotorreceptores.

Palabras clave: desarrollo del ojo, estructura de la retina, *Paralabrax maculatofasciatus*, fotorreceptores.

Abstract

We describe the development of the retina in spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae under culture conditions, using histological techniques. Retinal development in the spotted sand bass larvae followed a pattern previously described for other teleost species. Two periods of active differentiation were observed. The first occurred during the yolk-sac stage (from hatching to day 2 after hatching) as preparation for the onset of exogenous feeding. During this period, the eye showed negative allometric growth (growth coefficient = 0.5). At the time of first feeding (day 2), total length (TL) was 2.58 ± 0.26 mm (mean $\pm$ SD), the eye became pigmented and single cones were the only photoreceptors observed in the retina. After first feeding, a slightly positive allometric growth of the eye was observed (growth coefficient = 1.11). The second period occurred during the transformation to juvenile stage. Presumptive double cones were first observed on day 14 (TL = 5.37 ± 0.58 mm) and presumptive rods on day 22 after hatching (TL = 7.23 ± 0.99 mm). From day 22 onwards, the visual system was formed by a duplex retina with both rod and cone photoreceptors present.

Key words: eye development, retinal structure, *Paralabrax maculatofasciatus*, photoreceptors.

Introducción

La mayoría de las larvas de peces marinos son depredadores visuales (Hunter 1984). Para asegurar una transición exitosa de una alimentación endógena a una exógena, durante la etapa de eleuteroembrión deben ocurrir cambios significativos en el desarrollo del sistema visual. Un inapropiado desarrollo del sistema visual durante esta transición podría explicar parte de las elevadas tasas de mortalidad registradas durante el cultivo de larvas de peces marinos (Helvik y Karlsen 1996).

Al momento de la eclosión, el ojo de la mayoría de las larvas de peces está indiferenciado, compuesto por el cristalino y una retina indiferenciada. Al momento de la primera

Introduction

Marine fish larvae are mostly visual predators (Hunter 1984). Significant developmental changes have to occur in the visual system during the yolk-sac stage to ensure a successful transition from endogenous to exogenous feeding. An improper development of the visual system during this transition may explain part of the high mortality rates recorded in marine fish larviculture (Helvik and Karlsen 1996).

At hatching, the eye of most teleost larvae is undifferentiated. It is composed of the lens and an undifferentiated retina. At first feeding, only single cone photoreceptors are present in the retina (Blaxter 1975, Kawamura *et al.* 1984). Double cones appear later in development, and rods appear only during or

alimentación, la retina presenta solamente conos sencillos como fotorreceptores (Blaxter 1975, Kawamura *et al.* 1984). Los conos dobles aparecen posteriormente, y los bastones se forman durante o después de la transformación a juveniles, tal y como se ha descrito para *Clupea harengus* L. (Blaxter y Jones 1967, Sandy y Blaxter 1980), *Solea solea* (L.) (Sandy y Blaxter 1980), *Pagrus major* (Temminck y Schlegel) (Kawamura *et al.* 1984), e *Hippoglossus hippoglossus* L. (Kvenseth *et al.* 1996).

La cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) es un serránido que se distribuye desde Monterey, California, hasta Guerrero, México (Lluch-Cota 1995). Recientemente se han reportado varios aspectos de su cultivo y desarrollo larval (Álvarez-González *et al.* 2001, Peña *et al.* 2003, Peña *et al.* 2004). Aunque la tasa de supervivencia durante el cultivo larval se ha incrementado de 5% a 11% (Álvarez-González *et al.* 2001), se han observado elevadas tasas de mortalidad durante los primeros días de desarrollo. En un estudio previo, Peña *et al.* (2004) reportaron que en la primera alimentación, la retina de la cabrilla arenera está diferenciada y compuesta de conos sencillos como únicos fotorreceptores. El presente estudio describe el desarrollo de la retina en larvas de la cabrilla arenera bajo las condiciones estándar empleadas durante la crianza larvaria de esta especie. Esta información aportará elementos estructurales que permitirán entender mejor la capacidad visual de las larvas y así optimizar las condiciones de cultivo larval de esta especie.

Materiales y métodos

Se obtuvieron huevos fertilizados a partir de desoves espontáneos de reproductores de cabrilla arenera mantenidos en condiciones de cultivo (25°C, fotoperiodo de 13:11 luz:oscuridad; Rosales-Velázquez 1997), y fueron incubados en un tanque cónico de 0.1 m³ a 25.0 ± 0.2°C hasta la eclosión a las 24 h después de la fertilización. Los eleuteroembriones recién eclosionados fueron colocados en tres tanques de 120 L (densidad inicial = 50 larvas L⁻¹) con agua de mar esterilizada con luz UV, filtrada, y a una temperatura de 25.0 ± 0.2°C y salinidad de 35 ± 1. La intensidad de luz en la superficie del agua durante el periodo de estudio fue de 500 lux. Las larvas fueron alimentadas desde el momento de la primera alimentación (día 2 después de la eclosión) hasta el día 4 con rotíferos *Brachionus plicatilis* (densidad media = 1–3 rotíferos mL⁻¹); a partir del día 5 y hasta el día 14 se suministraron rotíferos enriquecidos con Selco™ (*Artemia* Systems, Ghent, Bélgica) (densidad media = 1–3 rotíferos mL⁻¹); del día 12 al 19 nauplios de *Artemia* enriquecidos con Selco™ (densidad media = 1 nauplios mL⁻¹); y del día 18 al 22 se suministraron juveniles de *Artemia* (densidad media = 0.25 juveniles mL⁻¹).

Previo a la alimentación, todos los días desde la eclosión hasta el día 14 y después, cada dos días hasta el día 22, se realizaron muestreos al azar de 40 ± 5 larvas. Después de ser anestesiadas con una solución de metil sulfonato de tricaina (35 mg L⁻¹), las larvas fueron fijadas con formol al 4%. Previo al análisis histológico, para cada día de muestreo, se tomó una

after transformation to juveniles, as described for *Clupea harengus* L. (Blaxter and Jones 1967, Sandy and Blaxter 1980), *Solea solea* (L.) (Sandy and Blaxter 1980), *Pagrus major* (Temminck and Schlegel) (Kawamura *et al.* 1984), and *Hippoglossus hippoglossus* L. (Kvenseth *et al.* 1996).

The spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) is a serranid found from Monterey, California, to Guerrero, Mexico (Lluch-Cota 1995). Recently, several aspects of its culture and larval development have been reported (Álvarez-González *et al.* 2001, Peña *et al.* 2003, Peña *et al.* 2004). Although survival rate during larval culture has increased from 5% to 11% (Álvarez-González *et al.* 2001), high mortality rates have been observed during the first days of development.

In a previous study, Peña *et al.* (2004) reported that at first feeding, the retina of the spotted sand bass is differentiated and with single cones as the only photoreceptors. The present study describes the development of the retina in spotted sand bass larvae under the standard culture conditions employed during the larviculture of this species. This knowledge will contribute to the structural elements that will allow a better understanding of larval visual capacity in order to optimize the culture conditions for this species.

Material and methods

Fertilized eggs were obtained from spontaneous spawns of spotted sand bass broodstock maintained under culture conditions (25°C, L13:D11; Rosales-Velázquez 1997) and were incubated in a 0.1-m³ conical tank at 25.0 ± 0.2°C until hatching at 24 h post-fertilization. Newly hatched yolk-sac larvae were placed in three 120-L tanks (initial density 50 larvae L⁻¹) with UV-filtered marine water at a temperature of 25.0 ± 0.2°C and salinity of 35 ± 1. Light intensity was 500 lux at water surface during the study period. From first feeding (day 2 after hatching) to day 4, larvae were offered rotifers *Brachionus plicatilis* (mean density = 1–3 rotifers mL⁻¹); from day 5 to day 14, larvae were fed rotifers (mean density = 1–3 rotifers mL⁻¹) enriched with Selco™ (*Artemia* Systems, Ghent, Belgium); Selco-enriched *Artemia* nauplii (mean density = 1 nauplius mL⁻¹) were offered from day 12 to day 19 and juvenile *Artemia* (mean density = 0.25 juvenile mL⁻¹) from day 18 to day 22.

Every day from hatching until day 14 and then every two days until day 22, 40 ± 5 larvae were sampled prior to feeding. After anesthetizing with a tricaine methanesulfonate solution (35 mg L⁻¹), they were fixed with 4% paraformaldehyde. Prior to histological analysis, for every sampling day, a subsample was taken of larvae presenting average total length (TL) and they were dehydrated with gradual alcohol immersions (70–100%) and double embedded in an alginate-paraffin matrix (Muñetón-Gómez *et al.* 1989). Sagittal sections (5-µm thick) were obtained with a rotary microtome, and stained with the hematoxylin-eosin technique (Davenport 1960) for general histological features of the eye. Examination under light microscopy was performed at several magnifications to describe the development of the retina.

submuestra con las larvas que presentaban el promedio de la longitud total (TL), mismas que fueron deshidratadas con inmersiones periódicas en alcohol a diferentes graduaciones (70–100%), e incluidas en una doble matriz de alginato-parafina (Muñetón-Gómez *et al.* 1989). Utilizando un microtomo de rotación, de estos bloques se obtuvieron cortes sagitales de 5 μm de espesor que fueron teñidos con la técnica general de hematoxilina-eosina (Davenport 1960). Se describió el desarrollo de la retina utilizando microscopía óptica.

Adicionalmente, se tomaron muestras aleatorias de 30 ± 5 larvas una hora después de la alimentación cada día desde el día 2 hasta el día 12 y después cada dos días hasta el día 18, y finalmente el día 21. Después de ser anestesiadas, las larvas fueron fotografiadas digitalmente y se les midió la TL y el diámetro del ojo (ED) utilizando el analizador digital de imágenes Image-Pro Plus v4.5 (Media Cybernetics, MD, EUA). Se calculó el crecimiento alométrico del ojo durante la fase de alimentación endógena (desde la eclosión hasta la completa absorción del saco de vitelo) y desde la primera alimentación (día 2) hasta el día 21. Se utilizaron los datos no transformados en la función potencial $Y = aX^b$, donde Y es la variable dependiente (ED) y X la variable independiente (TL), a es la ordenada al origen y b es el coeficiente de crecimiento (Fuiman 1983). Si $b = 1$, el crecimiento es isométrico, si $b > 1$ el crecimiento es alométrico positivo, y si $b < 1$ el crecimiento es alométrico negativo (Fuiman 1983).

Resultados

Al momento de la eclosión ($TL = 1.53 \pm 0.10$ mm, promedio $\pm$ DE), la retina de la cabrilla arenera estaba indiferenciada. El cristalino presentaba un diámetro inicial de 26.0 ± 3.1 μm . La retina estaba rodeada por la esclera que está compuesta por tejido conectivo. En la retina se observaron células indiferenciadas en un arreglo centrífugo sin estratificación evidente (fig. 1a).

Durante el periodo de alimentación endógena (desde la eclosión hasta la absorción del saco vitelino y glóbulo de aceite) se observaron cambios importantes en la estructura de la retina. Veinticuatro horas después de la eclosión ($TL = 1.90 \pm 0.14$ mm), se observaron cuatro presuntas capas en la retina. Éstas fueron, del exterior al interior: la nuclear externa, la nuclear interna, la plexiforme interna y la de células ganglionares (fig. 1b). No se observó la capa de pigmento epitelial. La capa nuclear externa consistió en una hilera de los segmentos nucleares de los presuntos conos. La capa nuclear interna estaba formada por presuntas células bipolares redondas. La capa plexiforme interna consistió en dendritas de las neuronas situadas en las capas nuclear interna y de células ganglionares. La capa de células ganglionares está formada por varias hileras de células redondas, probablemente células amácrinas. Durante el periodo de alimentación endógena el ojo presentó un crecimiento alométrico negativo ($b = 0.5$, fig. 2).

Al momento de la primera alimentación (día 2, $TL = 2.58 \pm 0.26$ mm), la capa de pigmento epitelial estaba rodeando la

Adicionalmente, random samples of 30 ± 5 larvae were sampled one hour after feeding every day from days 2 to 12, then every two days until day 18, and finally on day 21. After anaesthesia, specimens were digitally photographed and measured for TL and eye diameter (ED) using Image-Pro Plus v4.5 (Media Cybernetics, MD, USA) software. Allometric growth of the eye was calculated during the endogenous feeding stage (from hatching to complete yolk-sac absorption) and from first feeding (day 2) to day 21, as the power function (nontransformed data) $Y = aX^b$, where Y is the dependent variable (ED), X is the independent variable (TL), a is the intercept and b the growth coefficient (Fuiman 1983). A value of $b = 1$ indicates isometric growth, $b > 1$ indicates positive allometric growth and $b < 1$ indicates negative allometric growth (Fuiman 1983).

Results

At hatching ($TL = 1.53 \pm 0.10$ mm, mean $\pm$ SD), the retina of the spotted sand bass larvae was undifferentiated. The lens had an initial diameter of 26.0 ± 3.1 μm . The retina was surrounded by a sclera formed by connective tissue and it was composed of undifferentiated cells in a centrifugal arrangement without any evident stratification (fig. 1a).

During the endogenous feeding period (from hatching to absorption of yolk sac and oil globule), major changes in retinal structure were evident. Twenty-four hours after hatching ($TL = 1.90 \pm 0.14$ mm), four presumptive retinal layers were observed: from exterior to interior, the outer nuclear, inner nuclear, inner plexiform, and ganglion cell layers (fig. 1b). The pigment epithelium layer was not evident. The outer nuclear layer consisted of a row of nuclear segments of the presumptive single cones. The inner nuclear layer was formed by presumptive round bipolar cells. The inner plexiform layer consisted of the dendrites of the neurons situated in both the inner nuclear and ganglion cell layers. The ganglion cell layer was composed of several rows of presumptive amacrine cells. During the endogenous feeding period, the eye showed negative allometric growth ($b = 0.5$) (fig. 2).

At the time of first feeding (day 2, $TL = 2.58 \pm 0.26$ mm), the pigmented epithelium layer was surrounding the outer nuclear layer of the retina (fig. 1c). The outer segments of the presumptive single cones were well formed after day 2 and increased their size in the following days (fig. 3a). The outer plexiform layer consisted of a single row of horizontal cells between the outer nuclear and inner nuclear layers. No evident changes in retinal structure were observed in the days following first feeding; however, an increase in the number of photoreceptor cells was observed. A slightly positive allometric growth ($b = 1.11$) of the eye was observed after first feeding and until the end of the experiment (fig. 2).

Presumptive double cones were first observed in the retina on day 14 ($TL = 5.37 \pm 0.58$ mm) (fig. 3b). About day 16 ($TL = 6.64 \pm 0.43$ mm), several transitional cells, presumably rod precursor cells, were incorporated into the basal region of the outer nuclear layer from the inner nuclear layer (fig. 4a).

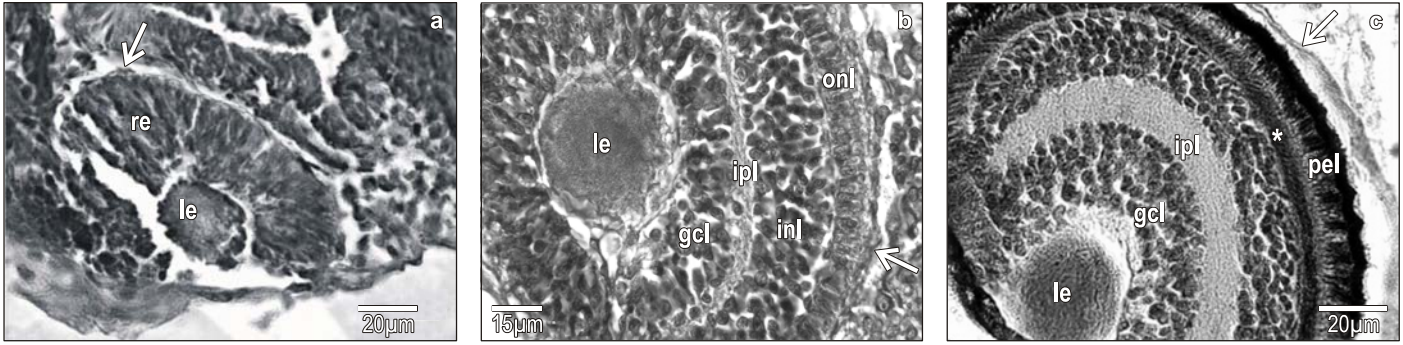


Figura 1. Retina de larvas de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. (a) Sección longitudinal al momento de la eclosión (longitud total TL = 1.53 ± 0.10 mm). La flecha indica la posición de la esclera rodeando la retina indiferenciada. le = cristalino, re = retina. (b) Sección longitudinal al día 1 después de la eclosión (TL = 1.90 ± 0.14 mm). Formación inicial de las capas de la retina. Se observan los segmentos externos de los presuntos conos en la capa nuclear externa (onl). La capa de pigmento epitelial no está presente. La flecha denota la esclera. gcl = capa de células ganglionares; inl = capa nuclear interna; ipl = capa plexiforme interna. (c) Sección longitudinal de la retina al día 2 (TL = 2.58 ± 0.26 mm). La capa de pigmento epitelial (pel) está presente a partir de este día. El asterisco denota la capa nuclear externa. La flecha indica la esclera.

Figure 1. Retina of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. (a) Longitudinal section at hatching (total length TL = 1.53 ± 0.10 mm). The arrow indicates the position of the sclera surrounding the undifferentiated retina. le = lens, re = retina. (b) Longitudinal section on day 1 after hatching (TL = 1.90 ± 0.14 mm). Initial formation of retinal layers. Outer segments of the presumptive cones are observed in the outer nuclear layer (onl). Pigmented epithelium layer is not present. The arrow denotes the sclera; gcl = ganglion cell layer, inl = inner nuclear layer, and ipl = inner plexiform layer. (c) Longitudinal section of the retina on day 2 (TL = 2.58 ± 0.26 mm). Pigment epithelium layer (pel) is present from this day onwards. The arrow indicates the sclera.

capa nuclear externa en la retina (fig. 1c). Los segmentos externos de los presuntos conos sencillos estaban bien formados después del día 2 e incrementaron su tamaño en los días siguientes (fig. 3a). La capa plexiforme externa consistió en una sola hilera de células horizontales entre la capa nuclear externa y la capa nuclear interna. No se observaron cambios evidentes en la estructura de la retina en los días subsiguientes a la primera alimentación. Sin embargo, se observó un incremento en el número de células fotorreceptoras. Después de la primera alimentación y hasta el final del periodo de estudio, se observó un crecimiento alométrico ligeramente positivo del ojo ($b = 1.11$, fig. 2).

El día 14 (TL = 5.37 ± 0.58 mm) se observaron por primera vez presuntos conos dobles (fig. 3b), y al día 16 (TL = 6.64 ± 0.43 mm) se observaron varias células en transición, presumiblemente precursoras de bastones, que se incorporaban desde la capa nuclear interna hacia la región basal de la capa nuclear externa (fig. 4a). A partir del día 22 (TL = 7.23 ± 0.99 mm) se observaron los núcleos de los presuntos bastones en la capa nuclear externa (fig. 4b). A partir de este día, el sistema visual de la cabrilla arenera estuvo formado por una retina dúplex compuesta de conos y bastones como fotorreceptores.

Discusión

El desarrollo estructural de la retina de la cabrilla arenera es similar al descrito en otras especies de teleósteos (Blaxter y Staines 1970, Blaxter 1986, Kvenseth *et al.* 1996, Pankhurst y Eagar 1996, Roo *et al.* 1999). Se evidenció un patrón general consistente en dos periodos de diferenciación activa de la retina. El primer periodo ocurre durante el periodo de alimentación endógena y está orientado hacia el inicio de la

On day 22 (TL = 7.23 ± 0.99 mm), presumptive rod cells were observed in the outer nuclear layer (fig. 4b), and from this day onwards the visual system was formed by a duplex retina with both rod and cone photoreceptors present.

Discussion

The structural development of the spotted sand bass larval retina resembles that described for other teleost species

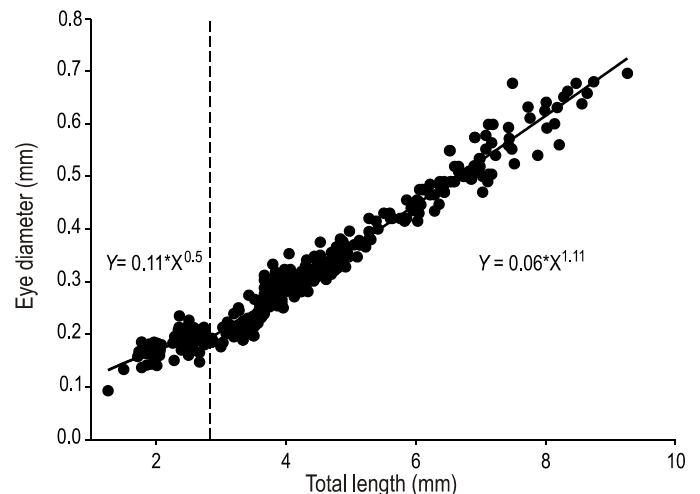


Figura 2. Curva de crecimiento alométrico del ojo de larvas de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* con relación a la longitud total. La línea vertical punteada representa la longitud total promedio en la primera alimentación (día 2).

Figure 2. Allometric growth curve of the eye of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae in relation to total length. The vertical dotted line represents the average total length at first feeding (day 2).

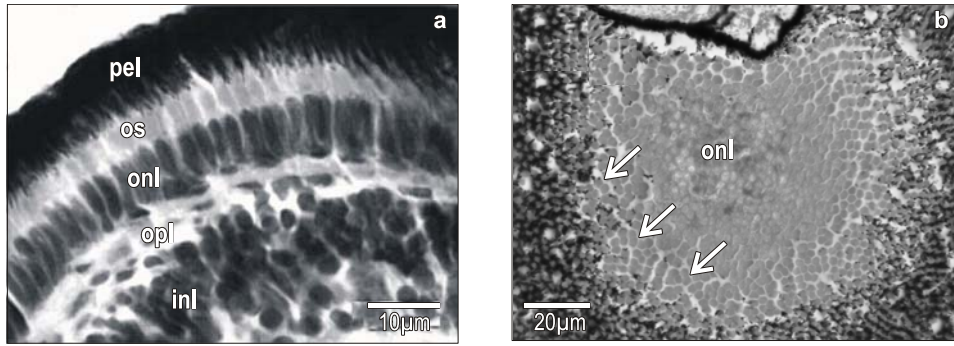


Figura 3. Retina de larvas de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. (a) Sección longitudinal al día 8. Los segmentos externos (os) de los conos sencillos están desarrollados. inl = capa nuclear interna; onl = capa nuclear externa; opl = capa plexiforme externa; pel = capa de pigmento epitelial. (b) Sección tangencial de la retina al nivel de los segmentos externos al día 14 (TL = 5.37 ± 0.58 mm). Las flechas indican los presuntos conos dobles.

Figure 3. Retina of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. (a) Longitudinal section at day 8. The outer segments (os) of the single cones are well formed; inl = inner nuclear layer, onl = outer nuclear layer, opl = outer plexiform layer, and pel = pigment epithelium layer. (b) Tangential section of the retina at the outer segment level on day 14 (TL = 5.37 ± 0.58 mm). The arrows indicate twin cones.

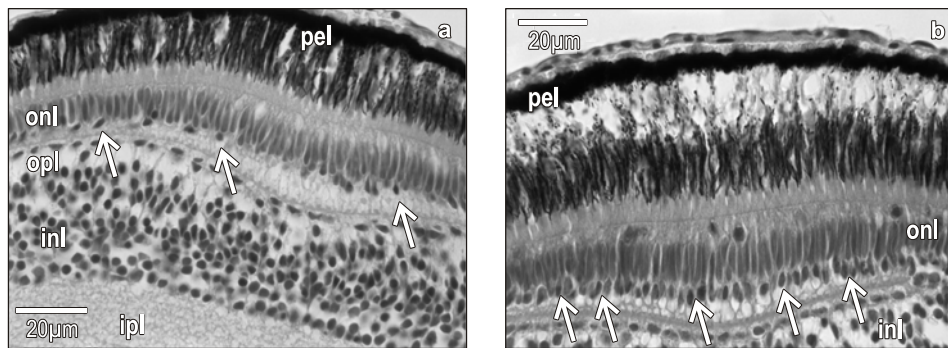


Figura 4. Retina de larvas de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. (a) Sección longitudinal al día 16 (TL = 6.64 ± 0.43 mm). Células en transición (presuntos bastones) (flechas) están presentes en la capa nuclear externa. inl = capa nuclear interna; ipl = capa plexiforme interna; onl = capa nuclear externa; opl = capa plexiforme externa; pel = capa de pigmento epitelial. (b) Sección longitudinal al día 22 (TL = 7.23 ± 0.99 mm). Los núcleos de los presuntos bastones (flechas) están presentes en la capa nuclear externa.

Figure 4. Retina of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. (a) Longitudinal section at day 16 (TL = 6.64 ± 0.43 mm). Transitional cells (presumptive rods) (arrows) are present in the outer nuclear layer; inl = inner nuclear layer, ipl = inner plexiform layer, onl = outer nuclear layer, opl = outer plexiform layer, and pel = pigment epithelium layer. (b) Longitudinal section at day 22 (TL = 7.23 ± 0.99 mm). Presumptive rod nuclei (arrows) are present in the outer nuclear layer.

detección de presas durante la primera alimentación y a la evasión de depredadores. El segundo periodo ocurre durante la transformación de las larvas a juveniles, presumiblemente como una adaptación a un tipo de vida bentónico (Evans y Browman 2004).

El periodo de alimentación endógena de la cabrilla arenera a 25°C dura dos días (Peña *et al.* 2003). Durante este periodo se observaron los cambios iniciales en la estructura de la retina 24 h después de la eclosión. La diferenciación de la capa de células ganglionares antes de la completa formación de los conos indica el desarrollo simultáneo de los fotorreceptores en la retina y el tallo óptico (Schwassmann 1965), lo que permite

(Blaxter and Staines 1970, Blaxter 1986, Kvenseth *et al.* 1996, Pankhurst and Eagar 1996, Roo *et al.* 1999). A general pattern consisting of two periods of active differentiation was evident. The first period occurred during the yolk-sac stage and was oriented towards the onset of prey detection at first feeding and predator avoidance. The second period occurred during the transformation to juvenile, presumably as an adaptation to a benthic life style (Evans and Browman 2004).

The endogenous feeding period of spotted sand bass larvae lasts for two days at 25°C (Peña *et al.* 2003). During this period, initial changes in retinal structure were observed 24 h after hatching. The differentiation of the ganglion cell layer

la transmisión de impulsos nerviosos cuando el ojo es funcional (Kvenseth *et al.* 1996). Durante la alimentación endógena de las larvas de la cabrilla arenera, la capa de pigmento epitelial está ausente lo que sugiere la falta de funcionalidad durante ese periodo, y ésta se observa por primera vez al momento de la primera alimentación exógena (día 2). La aparición de la capa de pigmento epitelial ha sido considerada como característica de un ojo funcional (Kawamura *et al.* 1984). En contraparte, Porter y Theilacker (1999) observaron pequeños parches de pigmento en la retina de *Theregra chalcogramma* (Pallas) desde el momento de la eclosión.

Al momento de la primera alimentación, los únicos fotorreceptores en la retina de las larvas de la cabrilla arenera son presuntos conos sencillos (Peña *et al.* 2004). Esta misma característica ha sido evidenciada en la retina de larvas de otras especies de teleósteos (Blaxter 1975, Kawamura *et al.* 1984, Pankhurst y Eagar 1996). Otros autores han mostrado que la retina consistente en conos sencillos como únicos fotorreceptores, presenta limitada agudeza visual y baja sensibilidad, lo cual reduce el contraste de un objeto (i.e., presas) (Evans y Browman 2004), y por consiguiente la eficiencia alimenticia de las larvas de peces (Peña *et al.* 2004, 2005). Igualmente, la retina de las larvas no tiene la capacidad de reaccionar ante cambios en la intensidad de luz ambiental (Ali 1975). Huse (1994) sugirió que esta característica puede limitar la distribución y el hábitat o zona de alimentación de las larvas en la columna de agua.

El inicio de la alimentación exógena de las larvas de peces requiere del desarrollo simultáneo de órganos y sistemas relacionados con la búsqueda e ingesta de presas (i.e., sistemas visual y digestivo). Las larvas de la cabrilla arenera presentan un tubo digestivo funcional al momento de la primera alimentación (Peña *et al.* 2003). Roo *et al.* (1999) y Porter y Theilacker (1999) describieron la relación estructural entre los sistemas visual y digestivo desde la primera alimentación en larvas de *Pagrus pagrus* L. y *T. chalcogramma*, respectivamente. Durante el periodo de nutrición endógena, el ojo de la cabrilla arenera presenta un crecimiento alométrico negativo ($b = 0.5$), lo que sugiere que durante este periodo la utilización de energía está dirigida principalmente a la diferenciación celular más que al crecimiento. En contraste, Rodríguez y Gisbert (2002) reportaron un crecimiento alométrico positivo ($b = 4.2$) en el ojo de *Acipenser baerii* Brandt, desde la eclosión hasta el día 3. Después de la primera alimentación, el crecimiento casi isométrico observado en el ojo de las larvas de la cabrilla arenera es similar al reportado por Rodríguez y Gisbert (2002) en *A. baerii* ($b = 0.9$).

El segundo periodo de diferenciación activa en la retina de la cabrilla arenera ocurre durante el periodo de transformación a juveniles. Se observa un incremento en la cantidad de conos simples y la aparición de presuntos conos dobles y bastones. La presencia de nuevos fotorreceptores incrementa las sinapsis neuronales y la función visual (Carvalho *et al.* 2004). De acuerdo con Shand *et al.* (1999), los conos dobles se forman por la ruptura enzimática de cisternas subsuperficiales de

prior to full cone formation indicates a simultaneous development of retinal receptors and the optic tectum (Schwassmann 1965), allowing the transmission of nerve impulses when the eye becomes functional (Kvenseth *et al.* 1996). In spotted sand bass larvae, the pigment epithelium layer is absent during the yolk-sac stage, suggesting lack of functionality during this period, and was first observed at the time of first feeding (day 2). The appearance of the pigment epithelium layer has been considered characteristic of a functional eye (Kawamura *et al.* 1984). In contrast, Porter and Theilacker (1999) observed small patches of pigment on the retina of *Theregra chalcogramma* (Pallas) at hatching.

At first feeding, the only photoreceptors in the retina of spotted sand bass larvae are presumptive single cones (Peña *et al.* 2004). The same feature has been described for the retina in larvae of other teleost species (Blaxter 1975, Kawamura *et al.* 1984). Other authors have shown that the single cone retina of fish larvae shows limited visual acuity and wavelength sensitivity, reducing target contrast (i.e., prey) (Evans and Browman 2004) and feeding efficiency (Peña *et al.* 2004, 2005). Also, larval retina may not react to changes in ambient light intensity (Ali 1975). Huse (1994) suggested that this feature might limit the distribution and feeding habitat or range of the larvae in the water column.

The start of exogenous feeding in fish larvae requires simultaneous development of organs and systems related to searching for prey and ingestion (i.e., visual and digestive systems). Spotted sand bass larvae at first feeding showed a functional digestive tract (Peña *et al.* 2003). Roo *et al.* (1999) and Porter and Theilacker (1999) described the structural relationship between the visual and digestive systems as of first feeding in larval *Pagrus pagrus* L. and *T. chalcogramma*, respectively. During the endogenous nutrition period, eye growth in the spotted sand bass followed a negative allometric pattern ($b = 0.5$), suggesting that during this period energy utilization is mainly directed toward cell differentiation instead of organ growth. In contrast, Rodríguez and Gisbert (2002) reported a positive allometric growth ($b = 4.2$) for the eye of *Acipenser baerii* Brandt, from hatching to day 3. After first feeding, the nearly isometric eye growth observed in the spotted sand bass larvae is similar to the growth coefficient obtained by Rodríguez and Gisbert (2002) for *A. baerii* ($b = 0.9$).

The second period of active differentiation in the retina of the spotted sand bass occurred during the transformation to juvenile stage, and includes an increment in the amount of single cones and the appearance of presumptive double cones and rods. This increases neural synapses and improves visual function (Carvalho *et al.* 2004). According to Shand *et al.* (1999), double cones are formed by the enzymatic breakdown of subsurface cisternae along adjacent cones. Double cones also change the spatial organization of the photoreceptors in the retina (Shand *et al.* 1999). This new arrangement, along with increased eye diameter, has been proposed as a

conos adyacentes. La presencia de los conos dobles cambia la organización espacial de los fotorreceptores en la retina (Shand *et al.* 1999). Este nuevo arreglo, junto con el incremento en el diámetro del ojo, han sido propuestos como mecanismos que incrementan tanto la sensibilidad como la agudeza visual de las larvas (Hairston *et al.* 1982, Kawamura *et al.* 1984, Kvenseth *et al.* 1996).

La incorporación de células a la capa nuclear externa en la retina de la cabrilla arenera en el día 16 ha sido también observada en larvas de otros teleósteos durante la transformación a juveniles. Estas células han sido reportadas como precursoras de los bastones (Blaxter y Staines 1970, Pankhurst y Eagar 1996), lo que resulta en una retina dúplex y en un sistema visual más especializado (Blaxter 1975, Sandy y Blaxter 1980, Evans y Browman 2004). Ali (1975) mostró que el incremento en la capacidad visual asociada con la presencia de bastones conlleva a una mayor sensibilidad, incrementando la detección de presas y la ingesta en un mayor intervalo de intensidades de luz. Después de un periodo larval pelágico y durante la transformación a juveniles, la cabrilla arenera cambia a un tipo de vida bentónico tanto en condiciones naturales (Lluch-Cota 1995) como en condiciones de cultivo (datos no publicados), lo que implica cambios en la intensidad y condiciones de iluminación.

Los resultados del presente estudio sugieren que la cabrilla arenera presenta las características visuales que le permiten iniciar con el proceso alimenticio una vez que se ha agotado el saco de vitelo y el glóbulo de aceite, y después cambiar de un estilo de vida pelágico a uno bentónico. Recientemente, Peña *et al.* (2004) confirmaron que las larvas de la cabrilla arenera dependen de la intensidad de luz durante su primera alimentación, siendo depredadores más efectivos a mayores intensidades de luz. Sin embargo, hasta qué grado la intensidad de luz afecta el desarrollo visual, la eficiencia alimenticia y el crecimiento durante el cultivo larval de la cabrilla arenera, requiere de más investigación.

Agradecimientos

Este estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México y por los programas institucionales del Instituto Politécnico Nacional (PIFI-IPN y COFAA-IPN).

Referencias

- Ali MA. 1975. Retinomotor responses. In: Ali MA (ed.), *Vision in Fishes. New Approaches in Research*. Plenum Press, New York, pp. 313–355.
- Alvarez-González CA, Ortiz-Galindo JL, Dumas S, Martínez-Díaz S, Hernández-Ceballos DE, Grayeb-Del Alamo T, Moreno-Legorreta M, Peña R, Civera-Cerecedo R. 2001. Effect of stocking density on the growth and survival of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae in a closed recirculating system. *J. World Aquacult. Soc.* 32: 130–137.

mechanism to increase larval visual acuity and sensibility (Hairston *et al.* 1982, Kawamura *et al.* 1984, Kvenseth *et al.* 1996).

The new basal cells observed in the outer nuclear layer of the spotted sand bass retina on day 16 have also been observed in other teleost larvae during transformation and have been reported as rod precursor cells (Blaxter and Staines 1970, Pankhurst and Eagar 1996), resulting in a duplex retina and a more specialized visual system (Blaxter 1975, Sandy and Blaxter 1980, Evans and Browman 2004). Ali (1975) showed that improvements in visual capacity associated with rods increases photosensitivity, with a concomitant increase in prey detection and ingestion in a broader range of light intensities. After a pelagic larval stage and during the transformation to juvenile stage, the spotted sand bass changes to a benthic life style under both natural conditions (Lluch-Cota 1995) and culture conditions (unpublished data). This implies changes in light intensity and illumination.

The present results suggest that the spotted sand bass presents the visual characteristics that allow it to start the feeding process once the yolk sac and oil globule are depleted and to change from a pelagic to a benthic life style. Recently, Peña *et al.* (2004) confirmed the light-dependence of spotted sand bass larvae at first feeding, being more effective predators at the highest intensity. Nevertheless, further research is needed to determine to what extent light intensity affects the visual development, feeding efficiency and growth during the larval culture of spotted sand bass.

Acknowledgements

This study was supported by the Mexican Council for Science and Technology (CONACyT) and by institutional programs at the National Polytechnic Institute (PIFI-IPN and COFAA-IPN).

- Blaxter JHS. 1975. The eye of larval fish. In: Ali MA (ed.), *Vision in Fishes. New Approaches in Research*. Plenum Press, New York, pp. 427–443.
- Blaxter JHS. 1986. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115: 98–114.
- Blaxter JHS, Jones MP. 1967. The development of the retina and retinomotor responses in the herring. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 47: 677–697.
- Blaxter JHS, Staines M. 1970. Pure-cone retinae and retinomotor responses in larval teleosts. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 50: 449–460.
- Carvalho PSM, Noltie DB, Tillitt DE. 2004. Biochemical, histological and behavioural aspects of visual function during early development of rainbow trout. *J. Fish Biol.* 64: 833–850.
- Davenport HA. 1960. *Histological and histochemical techniques*. WB Saunders Co., Philadelphia, 401 pp.
- Evans BI, Browman HI. 2004. Variation in the development of the fish retina. In: Govoni JJ (ed.), *The Development of Form and Function in Fishes and the Question of Larval Adaptation*. American Fisheries Society, Symposium 40, Bethesda, Maryland, pp. 145–166.

- Fuiman L.A. 1983. Growth gradients in fish larvae. *J. Fish Biol.* 23: 117–123.
- Hairston NG, Li KT, Easter SS. 1982. Fish vision and the detection of planktonic prey. *Science* 218: 1240–1242.
- Helvik JV, Karlsen O. 1996. The effect of light- and dark-rearing on the development of the eyes of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) yolk-sac larvae. *Mar. Freshwat. Behav. Physiol.* 28: 107–121.
- Hunter JR. 1984. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. In: Lasker R (ed.), *Marine Fish Larvae Morphology, Ecology and Relation to Fisheries*. Univ. Washington Press, Seattle, pp. 33–79.
- Huse I. 1994. Feeding at different illumination levels in larvae of three marine teleost species: cod, *Gadus morhua* L., plaice, *Pleuronectes platessa* L., and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquacult. Fish. Manage.* 25: 687–695.
- Kawamura G, Tsuda R, Kumai H, Ohashi S. 1984. The visual cell morphology of *Pagrus major* and its adaptive changes with shift from pelagic to benthic habitats. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50: 1975–1980.
- Kvenseth AM, Pittman K, Helvik JV. 1996. Eye development in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Differentiation and development of the retina from early yolk-sac stages through metamorphosis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2524–2532.
- Lluch-Cota D. 1995. Aspectos reproductivos de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Pices: Serranidae) en Bahía Magdalena-Almejas, BCS, México. Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, México, 116 pp.
- Muñetón-Gómez MS, Ochoa-Báez RI, Torres-Villegas JR. 1989. Valoración de la inclusión doble alginato-parafina aplicada para estudios histológicos en larvas de peces. *Inv. Mar. CICIMAR* 4: 281–284.
- Pankhurst PM, Eagar R. 1996. Changes in visual morphology through life history stages of the New Zealand snapper, *Pagrus auratus*. *N.Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 30: 79–90.
- Peña R, Dumas S, Villalejo-Fuerte M, Ortiz-Galindo JL. 2003. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture* 219: 633–644.
- Peña R, Dumas S, Saldívar-Lucio R, García G, Trasviña A, Hernández-Ceballos D. 2004. The effects of light intensity on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult. Res.* 35: 345–349.
- Peña R, Dumas S, Trasviña A, García G, Pliego-Cortés H. 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquacult. Res.* 36: 1239–1242.
- Porter SM, Theilacker GH. 1999. The development of the digestive tract and eye in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. *Fish. Bull.* 97: 722–729.
- Rodríguez A, Gisbert E. 2002. Eye development and the role of vision during Siberian sturgeon early ontogeny. *J. Appl. Ichthyol.* 18: 280–285.
- Roo FJ, Socorro J, Izquierdo MS, Caballero MJ, Hernández-Cruz CM, Fernández A, Fernández-Palacios H. 1999. Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation to changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture* 179: 499–512.
- Rosales-Velázquez MO. 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, México, 62 pp.
- Sandy JM, Blaxter JHS. 1980. A study of retinal development in larval herring and sole. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 60: 59–71.
- Shand J, Archer MA, Collin SP. 1999. Ontogenetic changes in the retinal photoreceptor mosaic in a fish, the black bream, *Acanthopagrus butcheri*. *J. Comp. Neurol.* 412: 203–217.
- Schwassmann HO. 1965. Functional development of visual pathways in larval sardines and anchovies. *CalCOFI Rep.* 10: 64–70.

Recibido en marzo de 2007;
aceptado en julio de 2007.