



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

DETERMINACIÓ DE CRONOTIPS EN EL RAOR *XYRICHTHYS NOVACULA*

Esperanza Rojas Díaz

Grau de Biologia

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2020-21

DETERMINACIÓ DE CRONOTIPS EN EL RAOR, *XYRICHTHYS NOVACULA*

Esperanza Rojas Díaz

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2020-21

Paraules clau del treball:

Xyrichthys novacula, raor, ritme d'activitat, cronotip, anàlisi cronbiològic.

Tutor del Treball : Dr. Antoni Gamundí Gamundí

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

RESUM

L'estudi de la personalitat en animals presenta un creixent interès en l'última dècada. La determinació de la personalitat es realitza mitjançant el concepte de repetibilitat i, en el cas dels peixos, quan es parla de personalitat s'atribueixen dos trets clarament marcats: els subjectes proactius que són aquells que creen noves rutes i es troben en constant estat exploratori de l'entorn; i els peixos reactius que són més passius i no afronten episodis d'exploració i lluita.

Entre els patrons que defineixen la personalitat cal destacar el cronotip i, per això, es va intentar definir diferents cronotips a 36 exemplars ($\sigma = 22$) de *Xyrichtys novacula* en medi natural, una espècie d'alt valor comercial. Es va determinar l'Onset, Offset i Centre de Gravetat, així com els principals paràmetres circadians a partir de l'activitat motora enregistrada en aquesta espècie a la reserva marítima de la Badia de Palma (Mallorca), durant el període prereproductor (maig) i reproductor (juliol). Del total d'exemplars, en els dos períodes inclosos en aquest treball un 19% va presentar un avanç de l'activitat ($\approx 25,7$ minuts) respecte a la mitjana, mentre que un 22% dels exemplars va presentar un retard ($\approx 87,98$ minuts) en el seu inici d'activitat. El període reproductiu va presentar diferències significatives respecte a l'Onset, Offset i Centre de Gravetat ($p < 0,001$) pel que fa a el període prereproductiu, mostrant un retard de l'activitat. Envers a les variables circadiàries, les femelles van presentar majors valors de mesor i amplitud en comparació als macles ($p < 0,001$) tant en el període prereproductor com en el reproductor.

Amb aquests resultats és possible diferenciar per primera vegada diferents cronotipos a peixos en medi natural, amb les repercussions que això pot tenir no només en l'estudi de la seva fisiologia sinó també en l'àmbit d'explotació de recursos pesquers.

ABSTRACT

The study of personality in animals has shown a growing interest in the last decade. The determination of personality is carried out through the concept of repeatability and, in the case of fish, when talking about personality, two clearly marked traits are attributed: proactive subjects who are those who create new routes and are in a constant state of exploration of the environment; and reactive fish that are more passive and do not face exploration and fighting episodes.

Among the patterns that define the personality, the chronotype should be highlighted and, therefore, an attempt was made to define different chronotypes in 36 specimens ($\sigma = 22$) of *Xyrichtys novacula* in the wild, a species of high commercial value. The Onset, Offset and Center of Gravity were determined, as well as the main circadian parameters from the motor activity recorded in this species in the maritime reserve of the Bay of Palma (Mallorca), during the pre-reproductive period (May) and reproductive period (July). Of the total number of specimens, in the two periods studied, 19% presented an advance in activity ($\approx 25,7$ minuts) with respect to the average, while 22% of the specimens presented a delay retard ($\approx 87,98$ minuts) at the onset of activity. The reproductive period showed significant differences in terms of Onset, Offset and Center of Gravity ($p < 0.001$) respect to the pre-reproductive period, showing a delay in activity. Regarding the circadian variables, females presented higher values of mesor and amplitude with respect to males ($p < 0.001$) both in the pre-reproductive period and in the reproductive period.

With these results it is possible to differentiate for the first time different chronotypes in fish in a natural environment, with the repercussions that this may have not only in the study of their physiology but also in the field of exploitation of fishing resources.

ÍNDEX

1. Introducció	5
1.1 Ritmes biològics	5
1.2 Sistema circadiari	5
1.3 Sistema circadiari en peixos	7
1.4 Personalitat.....	9
1.5 Cronotips	10
2. Hipòtesi i objectius	11
3. Materials i mètodes	11
3.1 Animal d'experimentació	11
3.2 Zona d'estudi	12
3.3 Registre de l'activitat motora	13
3.4 Anàlisi de dades	13
3.5 Anàlisi estadística	15
4. Resultats	15
5. Discussió	24
6. Conclusions	25
7. Limitacions del treball	26
8. Agraïments	26
9. Referències	26

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Ritmes biològics

La cronobiologia és la disciplina encarregada de l'estudi dels ritmes biològics dels éssers vius, així com les seves alteracions i els mecanismes reguladors. És una ciència multidisciplinària que inclou l'estudi dels aspectes biològics de la ritmicitat, així com la descripció i quantificació dels ritmes [Moore-Ede *et al.*, 1982].

Els ritmes biològics són els encarregats de sincronitzar de manera cíclica i regular els paràmetres fisiològics a partir dels sincronitzadors externs amb les oscil·lacions pròpies del medi natural, i són una propietat intrínseca dels organismes vius [Madrid & Rol de Lama, 2015].

En funció de la seva freqüència els ritmes biològics es poden classificar en diferents grups: els circadianis, que duren entre 20 i 28 hores i són els més freqüents en la natura, essent un exemple d'aquests els cicles son-vigília. També trobem els ritmes infradianis, amb períodes superiors a les 28 hores com n'és el cas del període de la menstruació i, finalment, trobem els ritmes ultradianis amb períodes inferiors a les 20 hores com és l'ECG, les fases de son en una nit... [Halberg, 1969].

Els ritmes circadians són adaptatius, permetent que els organismes siguin capaços d'adaptar-se als canvis del medi que els envolta, sincronitzant les respostes fisiològiques en períodes de aproximadament 24 hores. A més, també permeten als organismes anticipar-se a fenòmens predictibles del seu entorn, augmentant així la probabilitat de supervivència i evitar la depredació [Giannetto *et al.*, 2012].

1.2 Sistema circadiari

El sistema circadiari fa referència al conjunt d'estructures encarregades de l'organització temporal dels processos fisiològics i conductuals dels organismes dins un període de 24 hores. Això permet l'anticipació a canvis previsibles i periòdics de l'ambient i l'ajust de l'activitat al període òptim del dia [Rietveld, 1992].

Aquest sistema circadiari està format per 3 components; el nucli supraquiasmàtic (que es comporta com el principal oscil·lador) i un conjunt de vies aferents i eferents; les primeres de les quals són les responsables de fer arribar la informació del medi al nucli supraquiasmàtic, mentre que les segones són aquelles vies de sortida de la informació cap als òrgans efectors i permeten l'expressió dels ritmes fisiològics i comportamentals [Golombek & Yannielli, 2006] (Figura 1).

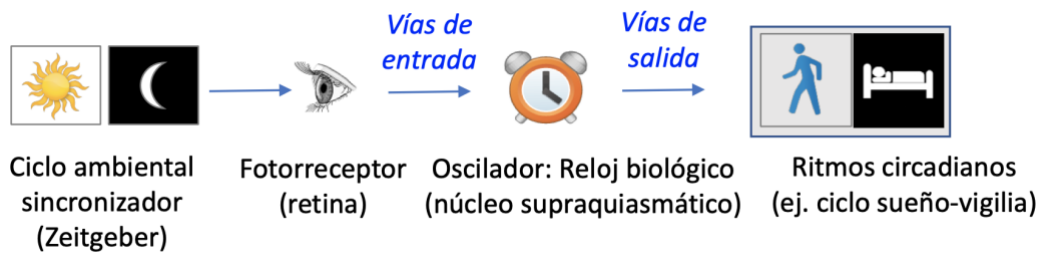


Figura 1: Representació dels tres components que formen el sistema circadiari [Font: Akaârîr, M., no publicat].

El nucli supraquiasmàtic (NSQ) està ubicat a l'hipotàlem dels vertebrats, per sobre del quiasma òptic, i és l'oscil·lador central més conegut, rellotge endogen capaç d'induir i sincronitzar respostes fisiològiques internes sense necessitat de cap element extern, com és el cas dels ritmes de secreció hormonal, de temperatura, etc... produint així aquests ritmes circadianis [Slat et al., 2013]. També aquesta sincronització és essencial per mantenir patrons de son i vigília saludables, ja que les interrupcions poden conduir a l'aparició de diferents problemes de son tant en humans com en altres animals [Montaruli et al., 2021; Toth & Bhargava., 2013].

En absència de components externs, els ritmes biològics s'ajusten a un període aproximat a 24 hores marcat pel rellotge central, produint així el que es coneix com ritmes de curs lliure. Els ritmes de curs lliure són aquells en què, en absència de sincronitzadors, continuen oscil·lant seguint un ritme endogen (τ), amb un retràs o avançament de l'aparició del cicle (de fase). En aquest cas hi ha una sèrie de factors tant abiòtics (llum, temperatura, humitat, cicles geofísics...) com biòtics (disponibilitat d'aliments, interaccions socials...) que són percebuts pel sistema sensorial de l'organisme i permeten la sincronització del rellotge intern amb els cicles ambientals [Helm et al., 2017] (Figura 2). El més important dels factors mencionats anteriorment és la presència de llum, que ajusta el ritme biològic amb el cicle llum-fosc del medi natural.

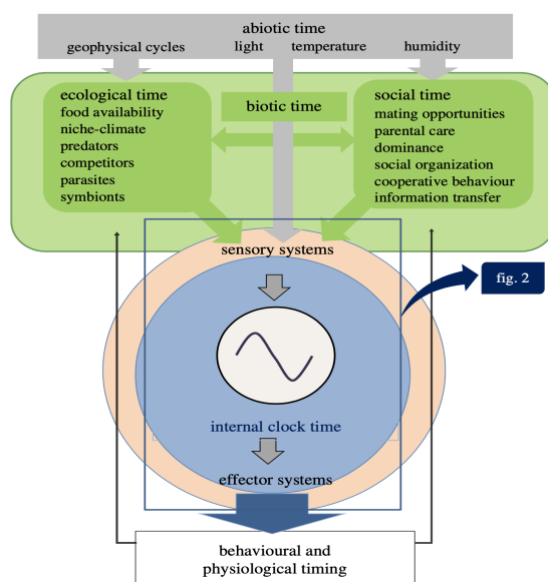


Figura 2: Representació dels components que afecten al rellotge intern. El cercle taronja representa un organisme amb el seu rellotge intern (blau). Amb els components abiòtics (gris) i els biòtics (verd) [Font: Helm et al., 2017].

El senyal lumínic és captat per les cèl·lules ganglionars de la retina les quals tenen melanopsina, un fotopigment que absorbeix la llum i presenta un màxim d'absorció en la llum blava ($\lambda = 446-477$ nm). Un cop aquest senyal ha estat captat, es transforma en un senyal nerviós que posteriorment serà enviat pel tracte retinohipotalàmic cap al nucli supraquiasmàtic, i d'aquí als òrgans efectors regulant patrons comportamentals i fisiològics. El nucli supraquiasmàtic connecta a través d'una via multisinàptica amb la glàndula pineal, una estructura endocrina encarregada de la secreció de melatonina mitjançant estimulació noradrenèrgica.

D'altra banda, el fet que el NSQ rebí informació de la retina provoca la inhibició de la síntesi de melatonina produïda a la glàndula pineal. De manera que durant la nit es produeix el pic de secreció de melatonina i és alliberada al torrent sanguini coincidint amb les hores de foscor nocturna. S'ha demostrat en diversos estudis que les alteracions en la sincronització dels ritmes repercuteixen en la salut [Hastings *et al.*, 2003].

1.3 Sistema circadiari en peixos

Al llarg de l'evolució els peixos han desenvolupat rellotges biològics que es sincronitzen amb els canvis cíclics que ocorren al medi natural com a conseqüència de l'alternança dia-nit, cicles de marea, estacions, sortida i posta de sol; i s'adapten a aquests mitjançant comportaments periòdics i anticipant-se a condicions remotes en el medi [Helm *et al.*, 2017] (Figura 3).

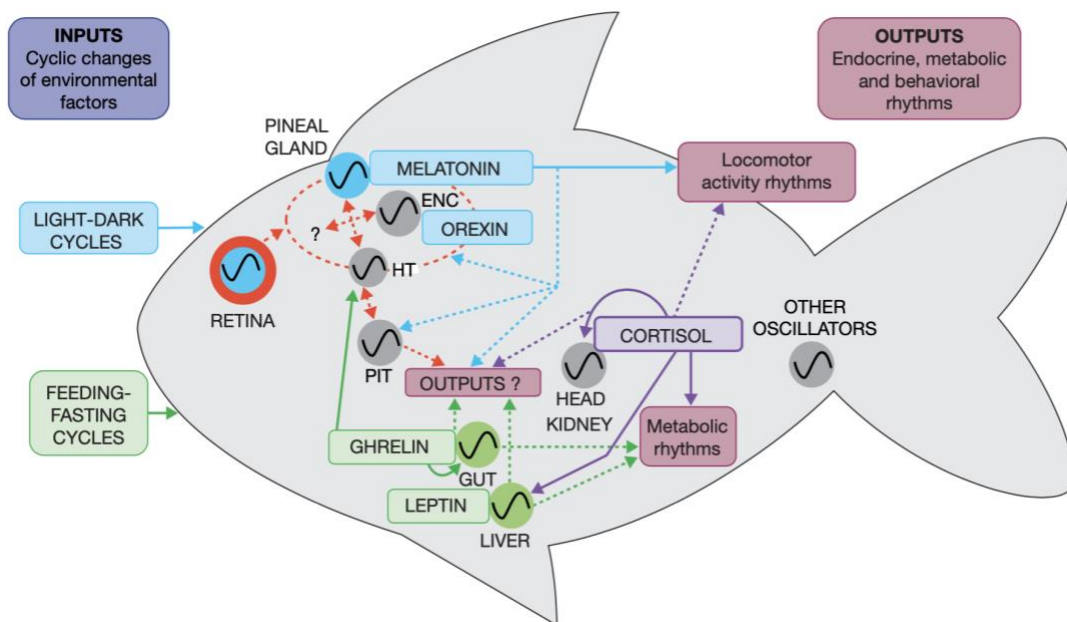


Figura 3: El sistema circadiari dels peixos. Els quadres marcats en blau indiquen el sistema circadiari del ritme repòs - activitat, en verd els ritmes metabòlics, i en lila trobem la interacció entre aquests. Les línies contínues indiquen les connexions que actualment se sap que existeixen en els peixos, mentre que les línies discontinües il·lustren connexions hipotètiques que encara no s'han informat. ENC, altres nuclis encefàlics; HT, hipotàlem; PIT, glàndula pituitària [Font: Isorna *et al.*, 2017].

Els teixits dels peixos són sensibles a la llum, de manera que no requereixen una estructura fotosensible centralitzada per activar i desencadenar la transcripció induïda per la llum. Això és gràcies a la presència d'opsines perifèriques (Figura 5). El senyal lumínic inicia la transcripció dels gens *PER2* i *CRY1a*, que a partir de l'expressió dels ARN pertinents, els nivells de proteïna oscilen durant un període de 24 hores donant lloc a la ritmicitat característica de les corresponents proteïnes [Frøland & Whitmore, 2019].

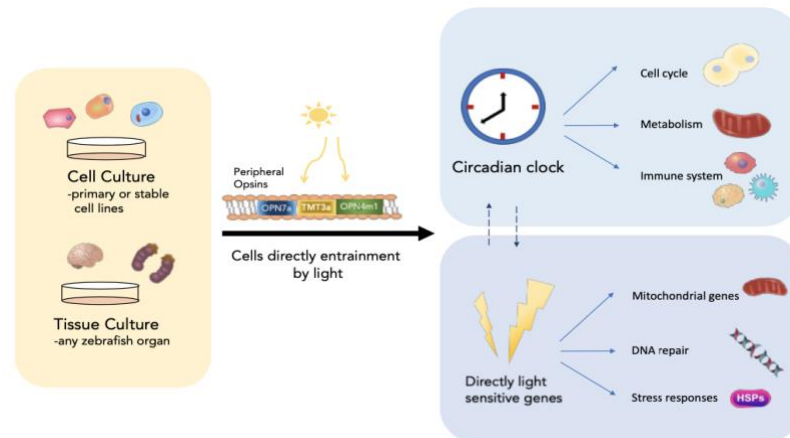


Figura 5: Els teixits del peix són rítmics i directament sensibles a la llum [Font: Frøland & Whitmore, 2019].

1.4 Personalitat

La personalitat es defineix amb una sèrie de trets comportamentals que caracteritzen a un individu i es repeteixen al llarg d'un període de temps, en tots els contextos. Aquestes variacions individuals s'han relacionat amb una capacitat adaptativa [Castanheira *et al.*, 2013].

La personalitat presenta dos components: el temperament i el caràcter o síndrome conductual [Cloninger, 1994]. El temperament es basa en les diferències individuals en hàbits i habilitats fonamentades en la percepció, que es regula per l'amígdala, l'hipotàlem, l'estria i altres parts del sistema límbic. Dins el temperament, s'han descrit un seguit de categories principals com són: la timidesa-audàcia, evitació-exploració, activitat, agressivitat i sociabilitat. El caràcter o síndrome conductual es pot definir en termes de diferències individuals en objectius i valors basats en el concepte (és a dir, relacionats amb la memòria propositiva i l'aprenentatge), que estan codificats per l'hipocamp i el neocòrtex cerebral [Conrad *et al.*, 2011].

En els humans, la psicologia de la personalitat és la branca encarregada de l'estudi del comportament i el caràcter de les persones. La determinació de la personalitat es fa mitjançant l'aplicació de tests que consisteixen en qüestionaris, guions, etc. dissenyats per revelar aspectes del caràcter i dels mecanismes psicològics d'un individu. Aquests poden ser generals, com és el cas del model "big five", o bé qüestionaris més específics per un tret en concret, com seria el cas del qüestionari d'agressivitat.

En el cas dels animals, la personalitat la definim com una construcció de trets que mostren respostes conductuals similars a través del temps i de les situacions. Per tal d'aplicar aquesta

definició, la determinació de la personalitat es realitza mitjançant el concepte de repetibilitat. En el cas dels peixos, quan es parla de personalitat s'atribueixen dos trets clarament marcats: els subjectes proactius que són aquells que creen noves rutes, es troben en constant estat exploratori de l'entorn i tenen un elevat nivell d'activitat i capacitat de reacció; i els peixos reactius que, per contra, són més passius, reservats i no afronten aquests episodis d'exploració i lluita [Castanheira *et al.*, 2013].

Conèixer els trets de personalitat dels peixos té un gran interès dins l'àmbit de les neurociències, prospecció pesquera, aqüicultura i rendiment de producció, susceptibilitat a la salut ... [Castanheira *et al.*, 2013]. Dins els patrons de personalitat trobem els cronotips i, entre aquests, l'estudi dels ritmes son-vigília [Randler, 2014].

1.5 Cronotips

El cronotip reflecteix la manifestació conductual del rellotge molecular subjacent d'un individu i té relació amb el benestar i la salut, relacionant-se també amb l'activitat física del subjecte. El rellotge intern és independent de les condicions ambientals ja que es troba determinat genèticament [Roenneberg *et al.*, 2003].

Diferents estudis ens mostren que els éssers humans presenten una major atracció per l'activitat en diferents moments del dia: uns prefereixen l'activitat diürna i estan més actius les primeres hores del dia, representant un 5% de la població (avançats o matutins); altres prefereixen l'activitat nocturna i es troben més actius durant les darreres hores del dia, representen el 32% de la població (retardats o vespertins); finalment, aquells individus que no mostren una clara preferència pel matí ni per la tarda i, per tant, mostren un cronotip indiferenciat que correspon a un 63% de la població [Roenneberg *et al.*, 2019]. Aquestes diferències es manifesten en una varietat de comportaments i influeixen en les actituds, l'estil de vida, la funció cognitiva, el rendiment atlètic i els trets de personalitat [Montaruli *et al.*, 2021]. Es creu que el continu "matutí-vespertí" reflecteix una tendència subjacent cap a un ajust de fase, avançada o retardada per una varietat de ritmes circadians en curs lliure.

A l'hora d'estudiar el cronotip en diferents espècies animals, els paràmetres més emprats a la literatura són: l'hora d'entrada i sortida del niu, el moment de finalització de l'activitat motora, l'hora d'inici de l'activitat, la durada del període d'inactivitat, la latència del son i la freqüència i durada dels despertars nocturns. Amb el conjunt d'aquests paràmetres, i mitjançant la repetibilitat, es poden determinar si hi ha relacions entre el comportament dels individus i el seu cicle d'activitat-inactivitat [Martorell-Barceló *et al.*, 2018].

Pel que fa als peixos, l'existència i estudi del cronotips (és a dir, l'avaluació de la repetibilitat en trets com el moment d'inici de l'activitat, l'aparició del descans o la durada del mateix) en medi natural no ha estat estudiada. No obstant això, a partir de diferents estudis amb peixos en captivitat, s'ha establert una certa correlació entre el cronotip i la supervivència, de manera que parlarem de coevolució en la que, com més tard inicien la seva activitat, menor probabilitat presenten de ser capturats per l'espècie humana [Martorell-Barceló *et al.*, 2018].

2. HIPÒTESI I OBJECTIUS

Aquest treball sorgeix de l'interès per conèixer els trets de personalitat en medi natural d'exemplars de raor, *Xyrichthys novacula*. Amb aquesta finalitat, s'enregistrà l'activitat en diferents períodes de l'any amb la intenció de relacionar els resultats obtinguts amb un possible mecanisme de resposta per a la supervivència, la pesca, la depredació, etc.

Pel present Treball de Fi de Grau s'analitzaran els registres d'activitat motora recollits per un grup de recerca de l'Institut Mediterrani d'Estudis Avançats (IMEDEA, CSIC-UIB), com a part del projecte titulat "Causes i conseqüències de la variabilitat del comportament relacionat amb els ritmes circadians en peixos marins salvatges (CLOCKS)", centrant l'atenció en el moment preferent d'activitat al llarg del dia.

Per tant, a partir d'aquí s'ha establert com a objectiu principal definir cronotips respecte al registre d'activitat motora quantificat dins l'hàbitat natural de *Xyrichthys novacula*.

A partir de l'objectiu principal, sorgeixen els següents objectius secundaris:

- Caracteritzar els trets més bàsics dels ritmes biològics d'aquesta espècie.
- Caracteritzar els possibles cronotips en funció de la seva distribució de l'activitat motora.
- Identificar variacions del cronotip envers al sexe i a l'estat fisiològic reproductor.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1 Animal d'experimentació

El subjecte d'experimentació d'aquest projecte ha estat el raor *Xyrichthys novacula*, pertanyent a la família *Labridae*, una espècie salvatge present a aigües clares i fons arenosos com són les àrees costaneres de la Mediterrània. Aquesta espècie s'ha vist molt amenaçada per les pesqueries, amb esdeveniments com la coneguda "Febre del raor". Com a conseqüència d'aquest fet s'inicià una època de veda l'any 2000 [BOE, 2000] i s'establí un calendari que actualment està regulat per la Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació i prohibeix la pesca de l'1 d'abril al 31 d'agost al temps que estableix unes condicions i quotes de captura [Vaquer-Sunyer *et al.*, 2020; BOIB de 27/04/2002].

Un tret característic d'aquests peixos és que durant la nit s'enterren a l'arena per a protegir-se de la depredació i durant el dia tenen un comportament bentònic; trobant-se a unes profunditats entre 15-40 m encara que se poden localitzar fins a de 90 m de profunditats [Cagriota *et al.*, 2005].

Quant a la seva fisiologia, són hermafrodites proterogínics o seqüencials, és a dir, inicien la seva maduresa sexual com a femelles i, un cop ja han arribat a una certa mida (uns 17 cm), es

poden diferenciar en mascles. En aquesta espècie trobem dimorfisme sexual, on el mascle presenta una mida de l'aleta pèlvica major a la de les femelles. La coloració constitueix també un tret diferencial: a les femelles es troba una taca dorsal blanca característica mentre que els mascles presenten una coloració verdosa [Katsanevakis, 2005].

Pel present estudi s'ha registrat l'activitat motora de 36 exemplars de *Xyrichthys novacula* (que formen part del projecte CLOCKS), dels quals 22 són mascles (d'una mida de $19,64 \pm 1,09$ cm) i 14 femelles (d'una mida de $15,31 \pm 0,81$ cm). Per a cadascun d'aquests individus s'ha realitzat l'enregistrament de la seva activitat durant l'etapa prereproductora (del 19-05-2019 al 7-06-2019) i durant l'etapa reproductora (del 2-07-2019 al 21-07-2019).

3.2 Zona d'estudi

La captura, marcatge i alliberament dels tots els exemplars s'ha realitzat en un temps inferior a 30 minuts, a la reserva marina de la Badia de Palma (Mallorca, Illes Balears), àrea que pertany a la xarxa d'Àrees Marines Protegides de la Direcció General de Pesca i Medi Marí del Govern de les Illes Balears. Correspon a una zona costanera, arenosa i homogènia (per evitar interferències en els senyals recollits), delimitada per praderies de *Posidonia oceanica* que juga un paper fonamental com a barrera per a evitar que els subjectes abandonin l'àrea, i que és hàbitat natural d'abundants poblacions del raor (veure Figura 6, representacions A, B i C) [Vaquer-Sunyer *et al.*, 2020]. L'àrea de la zona elegida té unes dimensions de 12,5 ha, equivalent a una quadrícula de 600x270 m i una profunditat que va dels 11 als 19 metres.

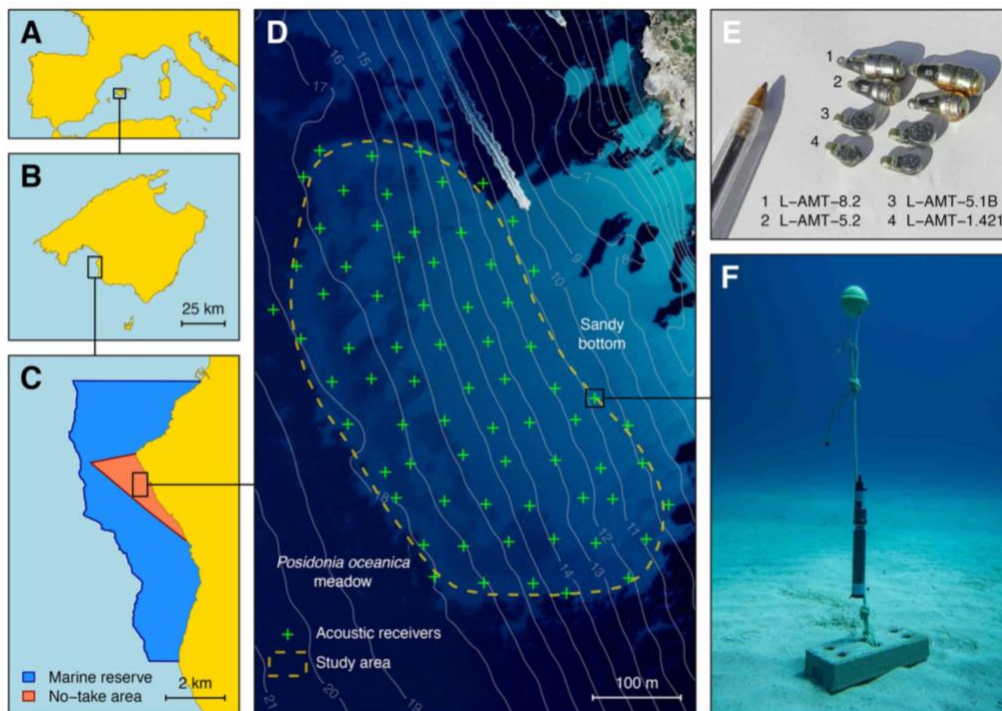


Figura 6: Localització de la zona d'estudi a la reserva marina de la Badia de Palma, al Mar Mediterrani. (A-C), distribució dels receptors acústics a l'àrea d'estudi (D), imatges dels micro-transmissors JSATS (E) i receptors acústics WSH-425L emprats (F) [Font: Aspillaga *et al.*, 2021].

Com s'ha mencionat anteriorment, el registre d'activitat s'ha dut a terme durant dues etapes fisiològicament diferenciades, per la qual cosa les condicions ambientals han estat diferents entre els dos períodes de monitoreig. En l'etapa prè-reproductiva la temperatura de l'aigua (mesurada al centre de l'àrea d'estudi a 14 m de fondària) fou de $18,30 \pm 0,64$ °C; mentre que en la segona etapa, la reproductiva, es varen enregistrar valors de $24,52 \pm 1,56$ °C.

3.3 Registre de l'activitat motora

El registre de l'activitat fou dut a terme per un grup de recerca de l'Institut Mediterrani d'Estudis Avançats (IMEDEA, CSIC-UIB) com a part del projecte titulat "Causes i conseqüències de la variabilitat del comportament relacionat amb els ritmes circadians en peixos marins salvatges (CLOCKS)" Projecte PID 2019-104940GA-100. [Aspillaga *et al.*, 2021].

Pel monitoratge dels peixos s'ha emprat la tècnica de telemetria acústica, utilitzant el sistema de rastreig d'alta resolució JSATS de l'empresa Lotek Wireless Inc., que ha estat utilitzat en estudis anteriors pel seguiment del salmó juvenil [Greer & McMichael, 2010]. Aquest sistema integra uns micro-transmissors acústics de la sèrie L-AMT i receptors autònoms WHS-4250 L, dispositius resistents a l'aigua i de mida petita, el que permet dur a terme el seguiment dels subjectes de l'estudi (Figura 6, fotografia E i F).

Per permetre la localització de l'individu han estat necessaris un conjunt de receptors ancorats al fons marí amb amarratge i boia, seguint una disposició de triangle equilàter i a una distància de 50 m entre ells, formant finalment una matriu de 70 receptors amb aquesta disposició. Un algoritme ha permès conèixer la posició exacta de cada individu en aquest circuit triangular, a partir de la captació de la senyal emesa per l'emissor (un senyal acústic a 416,7 Hz) en un mínim de tres receptors.

Els exemplars de raor es capturaren amb hams i, dins la mateixa embarcació, foren anestesiats per immersió en una solució de 0,1 g/L de metanosulfonat de tricaina. Una vegada assolit el nivell d'anestèsia adient es va procedir a implantar els micro-transmissors JSATS a la cavitat peritoneal a través d'una petita incisió ventral i, posteriorment, es duqué a terme l'oclusió del teixit amb sutures no reabsorbibles. Abans de ser alliberats de nou al lloc de captura, s'ubicaren en un petit tanc d'aigua marina neta fins a la seva recuperació.

Tot el procediment experimental fou aprovat pel Comitè d'Ètica d'Experimentació Animal de la UIB (referència CEEA 107/01/19).

3.4 Anàlisi de dades

Per a dur a terme aquesta anàlisi, s'han emprat els fitxers de dades provinents de l'IMEDEA dels 36 exemplars de raor, dels quals s'han agafat registres de l'etapa prè-reproductiva i reproductiva.

Els fitxers tenien les dades de l'activitat motora (distància recorreguda en unitats arbitràries) dels peixos, enregistrada cada minut al llarg de 12 dies en el cas de l'etapa prereproductiva, i 19 dies en el cas de l'etapa reproductiva.

A partir d'aquestes dades s'obtingué, seguint el mètode cosinor, un periodograma mitjançant el qual fou possible calcular el valor de tau i, posteriorment les variables circadiàries: mesor, amplitud i acrofase descrites a continuació (Figura 12). Per a aquesta anàlisi es va emprar el programa *Ritme* [Díez-Noguera, 2013].

L'anàlisi pel mètode cosinor de dades ritmomètriques permet definir els següents paràmetres (Figura 7) [Refinetti *et al.*, 2007]:

- Període: interval de temps necessari per a dur a terme una oscil·lació completa. Es defineix la freqüència com la inversa del període.
- Acrofase (zenit): És el moment de temps en que l'oscil·lació expressa el seu valor màxim.
- Mesor o *Mean Estimating Statistics of Rhythm*: és el valor mitjà dels valors pels quals oscil·la el ritme durant un cicle.
- Amplitud: és la diferència entre el mesor i l'acrofase.

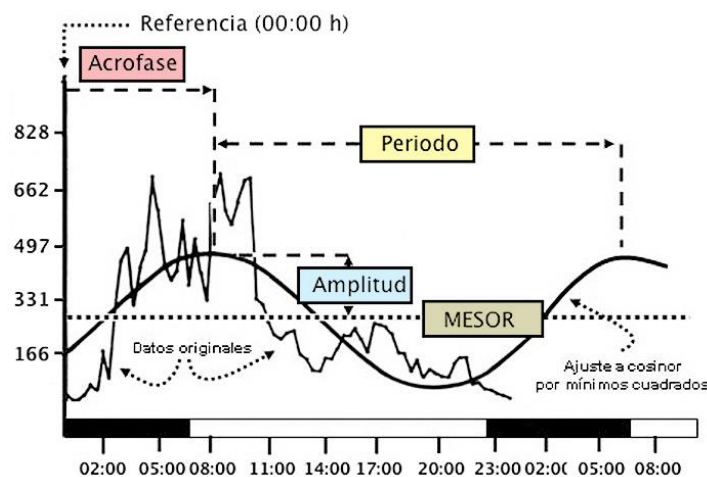


Figura 7: Diagrama dels paràmetres que defineixen un ritme biològic. [Font: adaptat de Touitou, Y. & Haus, E., 1994]

D'altra banda, es dugué a terme una representació en doble-plot de les dades de cada peix i condició fisiològica emprant el software Cronoshop [Spoelstra, 2018]. Un doble-plot és una matriu de representació on cada fila representa les variacions de la variable d'estudi durant un dia, i cada columna l'acumulació de moviments durant un interval de temps determinat. La part més fosca del traçat representa la fase d'activitat mentre que la part més clara la fase d'inactivitat [Jud *et al.*, 2005].

A través d'aquesta representació fou possible calcular l'Onset, l'Offset i el Centre de Gravetat de les sèries temporals, definits com:

- Centre de gravetat (CG): Es correspon al instant de temps en el qual hi ha el 50% de la variable.

- Onset: Moment d'inici de l'activitat, calculada per a cada cicle reculant 0,5 cicles en el temps des del centre de gravetat.
- Offset: Moments de finalització de l'activitat, calculada per a cada cicle avançant 0,5 cicles des del CG.

3.5 Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística de les dades s'ha realitzat amb el software RStudio i el SPSS Statistics 20. Es consideraren com a variables independents el sexe dels peixos i l'etapa reproductiva en què es trobaven, i com a variables dependents les obtingudes pel mètode cosinor i de les representacions dels doble-plots.

Per analitzar la relació de dependència entre variables s'ha dut a terme prèviament una anàlisi de normalitat i homogeneïtat de variàncies per, posteriorment i en funció dels resultats, realitzar l'anàlisi estadística pertinent:

- T-student: dades amb distribució normal i homogeneïtat de variàncies
- T- Welch: dades amb distribució normal, però no amb una distribució homogènia
- Wilcoxon-Mann-Whitney: quan les dades no complien la normalitat.

En el cas de mostres dependents, es segueix el mateix criteri; no obstant, no es realitza el test de homogeneïtat de variàncies.

Per a la classificació dels diferents individus envers als cronotips (avançats, indefinits i retardats), i amb el conjunt de variables dependents obtingudes, es feu una anàlisi de components principals que va permetre identificar la variable Onset i Centre de Gravetat com aquelles que definien millor els diferents cronotips. Posteriorment es realitzà una anàlisi de conglomerats jeràrquics per obtenir els corresponents dendrogrames.

4. RESULTATS

4.1 Variables circadiàries

Els ritmes circadiaris són oscil·lacions de les variables fisiològiques dins un període aproximat de 24 hores, i per poder definir els ritmes els paràmetres més emprats són: el mesor, l'amplitud i la acrofase; amb la determinació prèvia del valor del període (tau). A la figura 8 tenim, a mode d'exemple, la representació de l'anàlisi del cosinor d'un dels exemplars de raor estudiats.

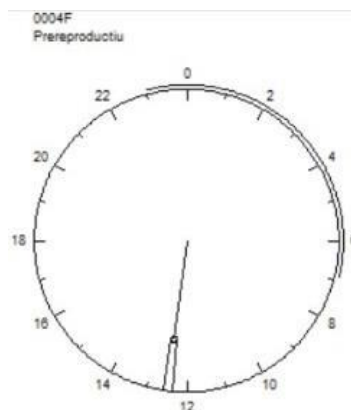


Figura 8: Representació de l'anàlisi pel mètode del cosinor d'un exemplar de raor.

A partir de la determinació dels periodogrames, fou possible calcular el valor del període (tau) tant a la fase prereproductiva com reproductiva. A la figura 9 es representa la comparació entre els dos estats fisiològics mostrant diferències significatives. En ambdós casos, el valor de tau està comprès dins la classificació de ritme circadiari (per a períodes compresos entre 20 i 28 hores).

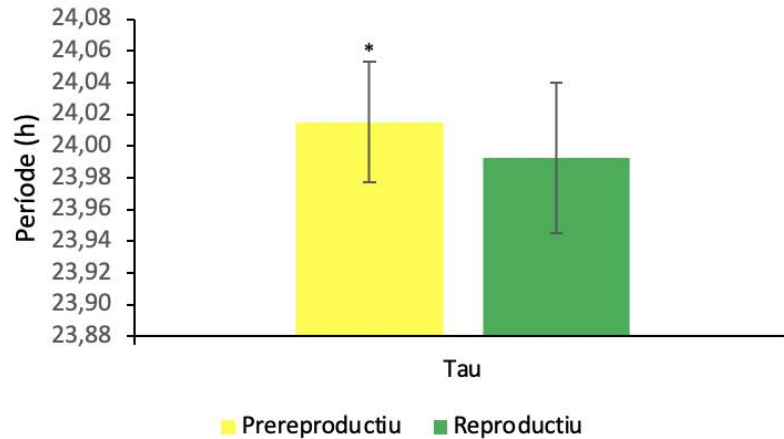


Figura 9: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de tau, comparant el període prereproductiu amb el reproductiu. (* $p < 0,05$ prova *T de Wilcoxon*).

A la figura 10 es mostra la comparativa entre sexes dins cada estat fisiològic, indicant que no hi ha diferències significatives ni a l'etapa prereproductiva ($p=0,533$) ni a la reproductiva ($p=0,5472$).

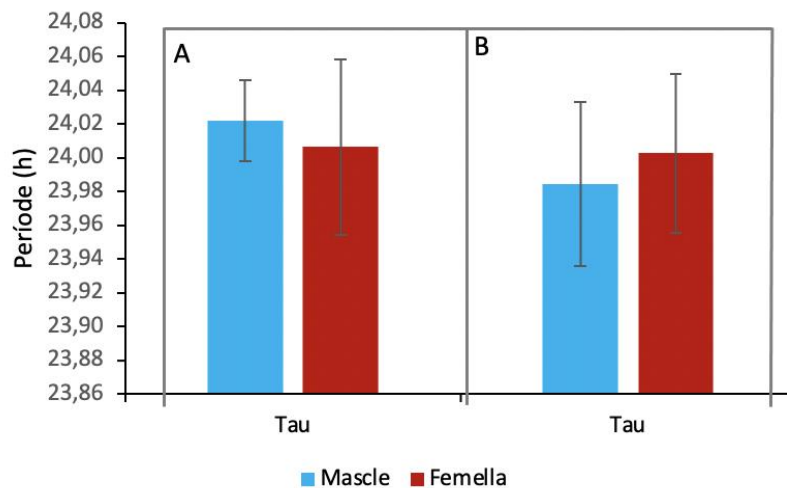


Figura 10: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de la tau comparant els mascles i les femelles. A: període prereproductiu, B: període reproductiu. (*prova T de Wilcoxon*).

La figura 11 motra els resultats, per a cada sexe, quan es compara l'etapa prereproductiva amb la reproductiva, apareixent diferències estadísticament significatives en el cas dels mascles i no en el cas de les femelles.

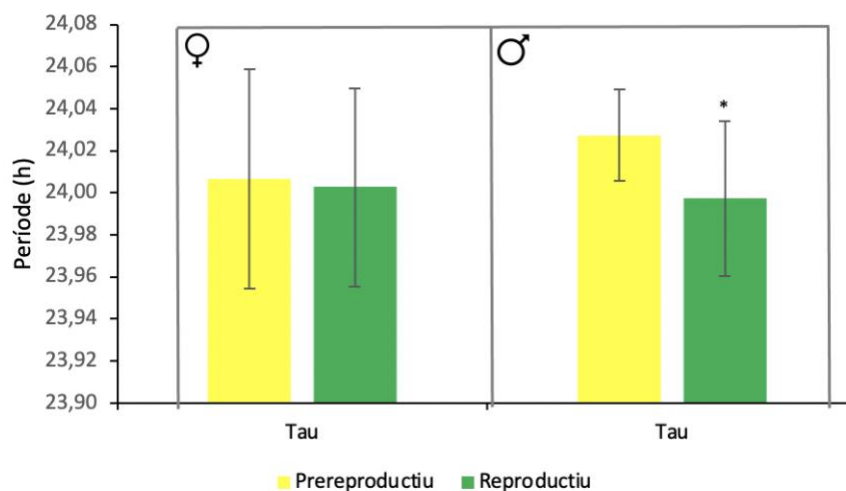


Figura 11: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de la tau, comparant el període prereproductiu amb el reproductiu dins cada sexe. (* $p < 0,05$ prova *T* de Wilcoxon al sexe masculí i *T*-student al sexe femení)

Entre els paràmetres circadiaris i pel mètode del cosinor, s'han calculat els valors de acrofase, mesor i amplitud. A la figura 12, 13 i 14 trobem representat el mesor (valor mitjà al voltant del qual oscila una variable) i l'amplitud (diferència entre el mesor i l'acrofase). La figura 12 representa el promig i la desviació típica d'aquestes dues variables comparant-les entre l'etapa reproductiva i la prereproductiva, sense obtenir diferències estadísticament significatives.

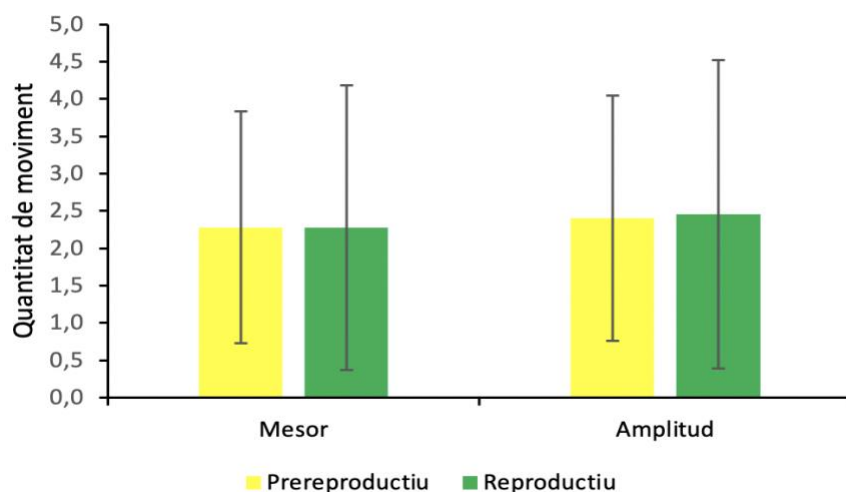


Figura 12: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) del mesor i l'amplitud, comparant el període prereproductiu amb el reproductiu. (prova *T* de Wilcoxon).

La figura 13 mostra una comparació entre sexes dins cada etapa fisiològica, mostrant diferències significatives en ambdós paràmetres. En el cas de la figura 14 es mostren els valors del període prereproductiu i reproductiu, per a cada sexe, mostrant diferències significatives sols en el cas de les femelles.

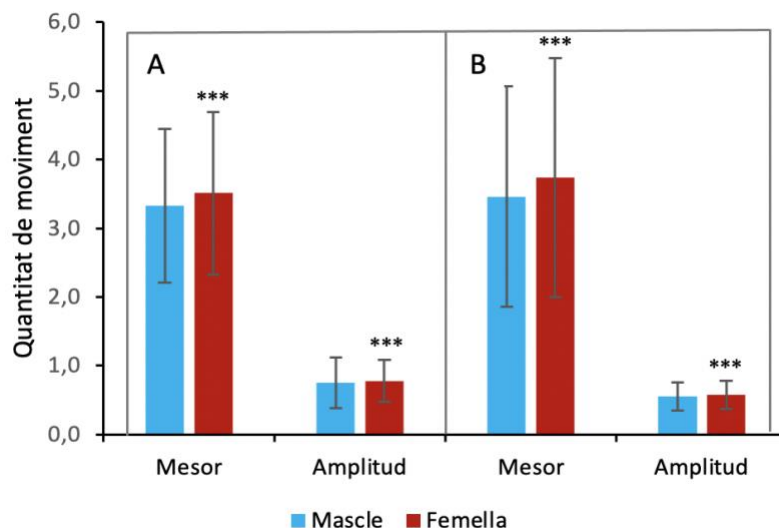


Figura 13: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) del mesor i amplitud comparant els mascles i les femelles al període prereproductiu (A) i reproductiu (B). (**** $p < 0,001$ prova *T* de Welch al període prereproductiu; Wilcoxon al període reproductiu)

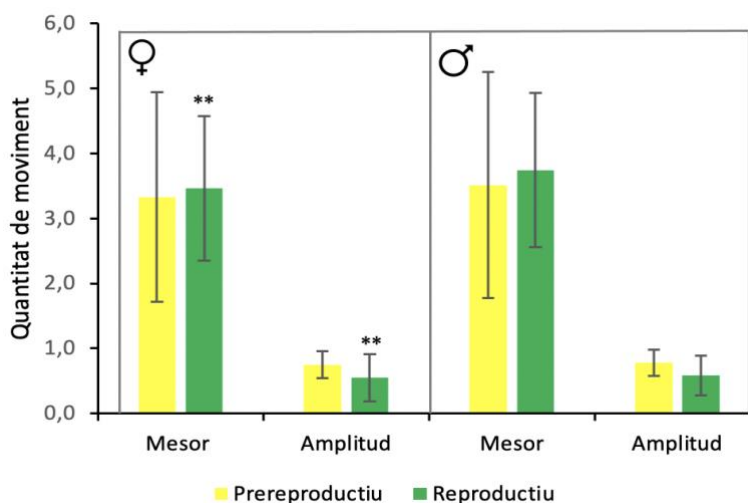


Figura 14: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) del mesor i amplitud comparant el període prereproductiu amb el reproductiu dins cada sexe. (*** $p < 0,01$ prova *T* de Wilcoxon).

Un tercer paràmetre circadiari quantificat és l'acrofase, que es defineix com l'hora del dia en la que ocorre el punt més alt de la oscil·lació. Aquesta variable es troba representada en les figures 15, 16 i 17 seguint les mateixes relacions que en els paràmetres anteriors. A la figura 15 es representa l'acrofase comparant els dos períodes estudiats dels exemplars de *Xyrichthys novacula*, mostrant diferències significatives. La figura 16 es representa la comparació entre sexes dins cada període mostrant diferències estadísticament significatives en ambdós casos. I en el cas de la figura 17 es representa una comparativa entre el període prereproductiu i reproductiu, dins cada sexe, mostrant diferències significatives sols en el cas dels mascles.

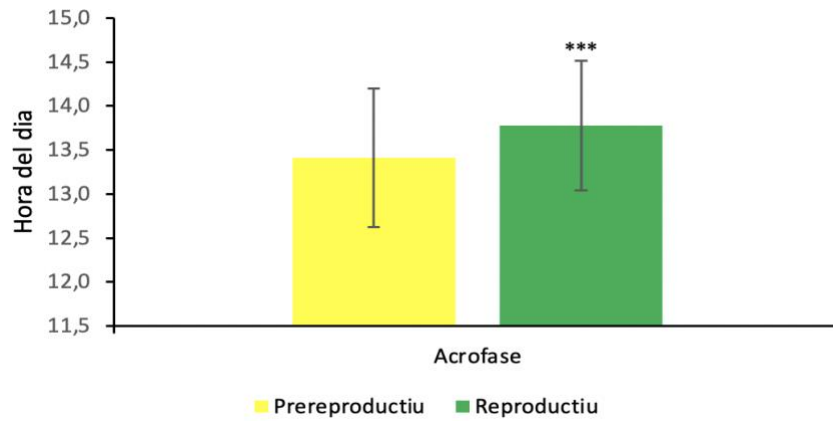


Figura 15: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de l'acrofase, comparant el període prereproductiu amb el reproductiu. ($***p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon).

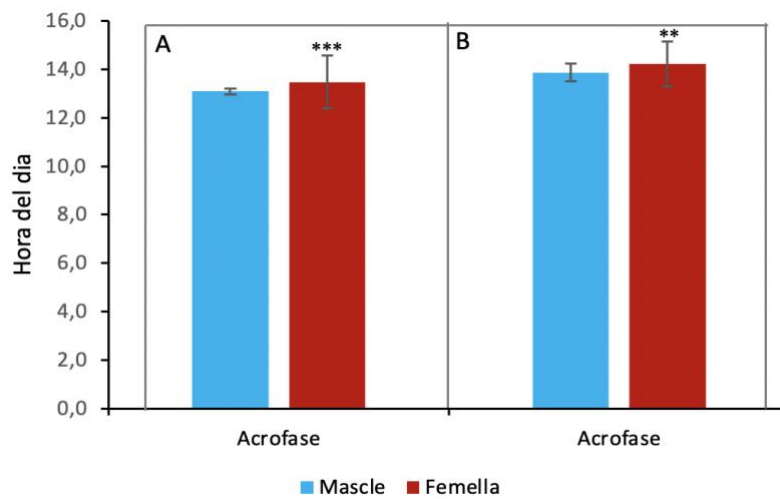


Figura 16: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de l'acrofase, comparant els mascles i les femelles al període prereproductiu (A) i reproductiu (B). ($** p < 0,01$; $***p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon).

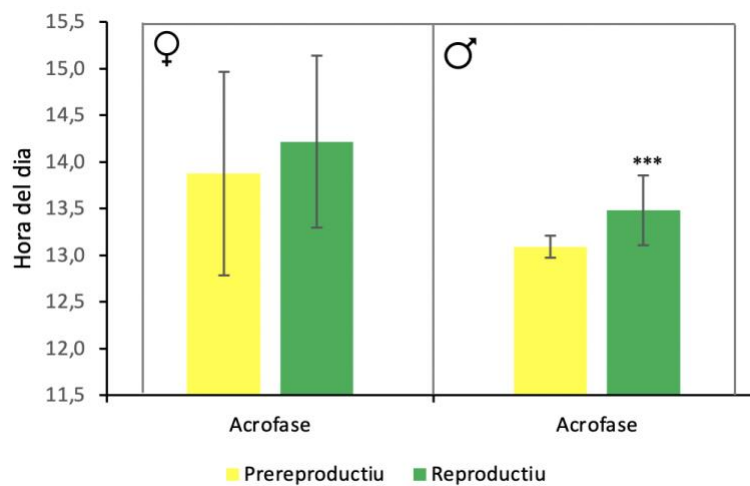


Figura 17: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de l'acrofase, comparant el període prereproductiu amb el reproductiu dins cada sexe. ($***p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon).

4.2 Paràmetres per definir el cronotip

El cronotip, com s'ha comentat anteriorment, es defineix com cadascuna de les variables que adopten els ritmes circadianis endògens. Entre els paràmetres que ens ajuden a definir-ho trobem l'Onset, l'Offset i el Centre de Gravetat (CG). A la figura 18 tenim, a mode d'exemple, una representació d'un doble plot que mostra aquests paràmetres, en funció de la quantitat de moviment i del moment del dia al llarg de 21 dies.

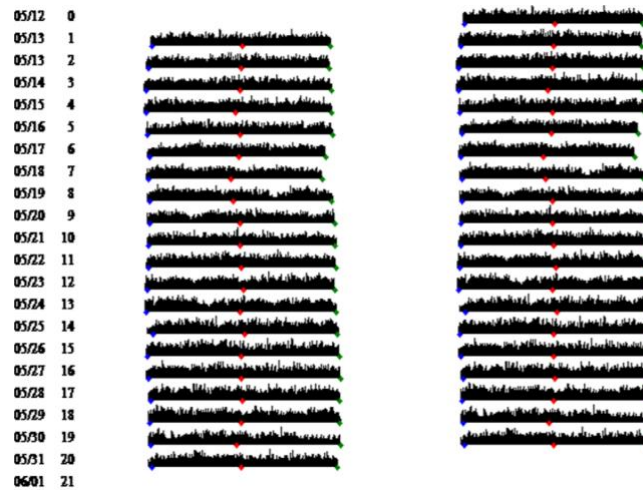


Figura 18: Representació de un doble-plot on es mostra l'Onset (punt blau), el Centre de Gravetat (punt vermell) i l'Offset (punt verd) d'un peix mascle durant el període prereproductiu.

Per poder definir cronotips en els diferents exemplars de *Xyrichthys novacula* s'han fet un seguit de relacions tenint en compte el sexe i el període fisiològic del subjecte. A la figura 19 tenim una representació en la que es comparen els valors dels paràmetres en funció del període fisiològic indistintament del sexe, mostrant diferències significatives tant en l'Onset, a l'Offset com el Centre de Gravetat (CG).

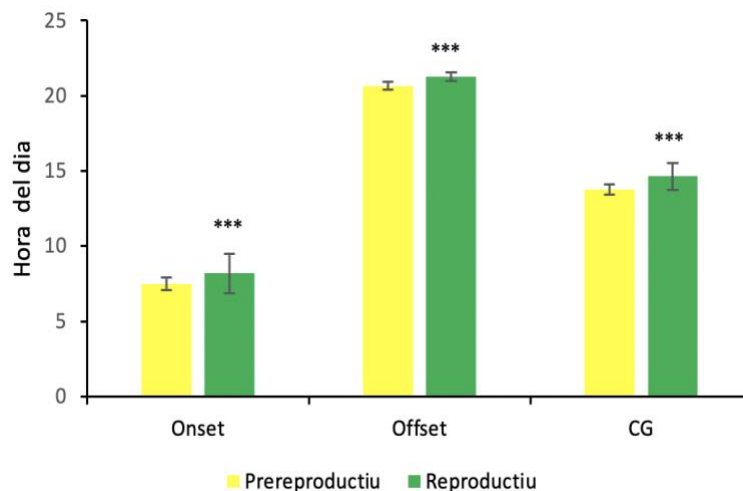


Figura 19: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de les variables que defineixen els cronotips; l'Onset, Offset i Centre de Gravetat (CG), comparant el període prereproductiu amb el reproductiu. (*** $p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon).

A les figures 20 i 21 les relacions s'han establert tenint en compte tant l'estat fisiològic com el sexe dels subjectes. En el cas de la figura 20 s'han comparat els paràmetres definitoris del cronotip en cada sexe en funció del moment d'enregistrament, trobant-se diferències significatives en el cas del període prereproductiu a l'Onset i al CG; de la mateixa manera que ocorre pel Onset del període reproductiu. A la figura 21 s'han comparat, per sexes, entre el període reproductiu i el prereproductiu, cas en el qual es troben diferències significatives a tots els paràmetres.

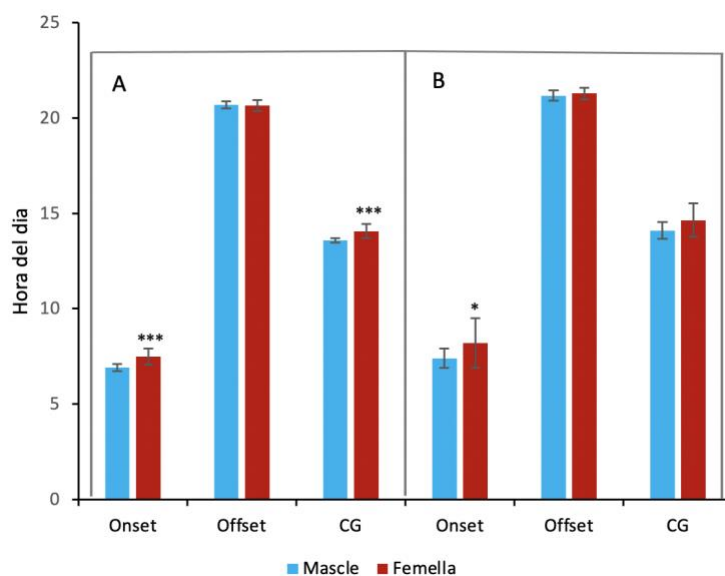


Figura 20: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de l'Onset, Offset i Centre de Gravetat (CG), comparant els mascles i les femelles al període prereproductiu (A) i reproductiu (B). (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon; *T*-student per Onset del període prereproductiu)

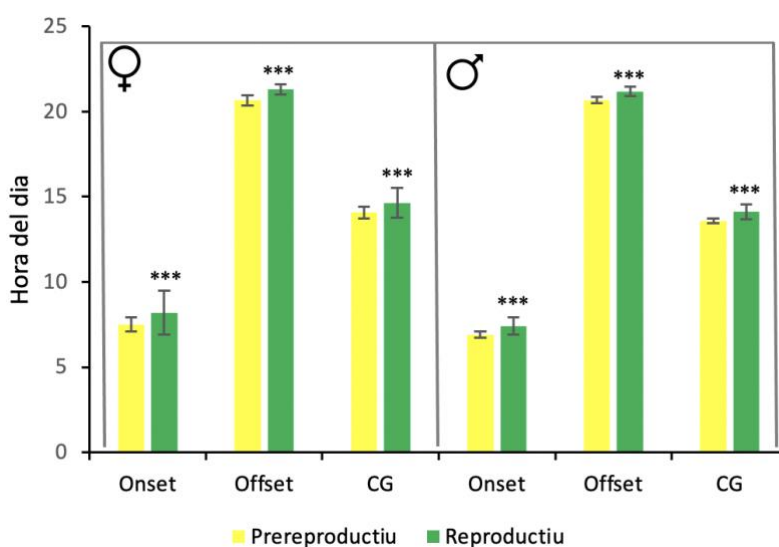


Figura 21: Representació dels resultats (mitjana i desviació estàndard) de l'Onset, Offset i Centre de Gravetat (CG), comparant el període prereproductiu amb el reproductiu dins cada sexe. (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ prova *T* de Wilcoxon; *T*-student per CG del sexe masculí)

L'objectiu principal del treball és definir cronotips en *Xyrichthys novacula* a partir del seu registre d'activitat motora. A la figura 22 es mostra un dendrograma que classifica els diferents subjectes en funció de l'hora a la que inicien l'activitat en el període prereproductiu. Sobre aquesta classificació s'han pogut realitzar agrupacions per diferenciar els que presenten el cronotip avançat (n=7: 19,44% tots ells mascles), indefinit (n=21: 58,33%) o retardat (n=8: 22,22 % tots ells femelles).

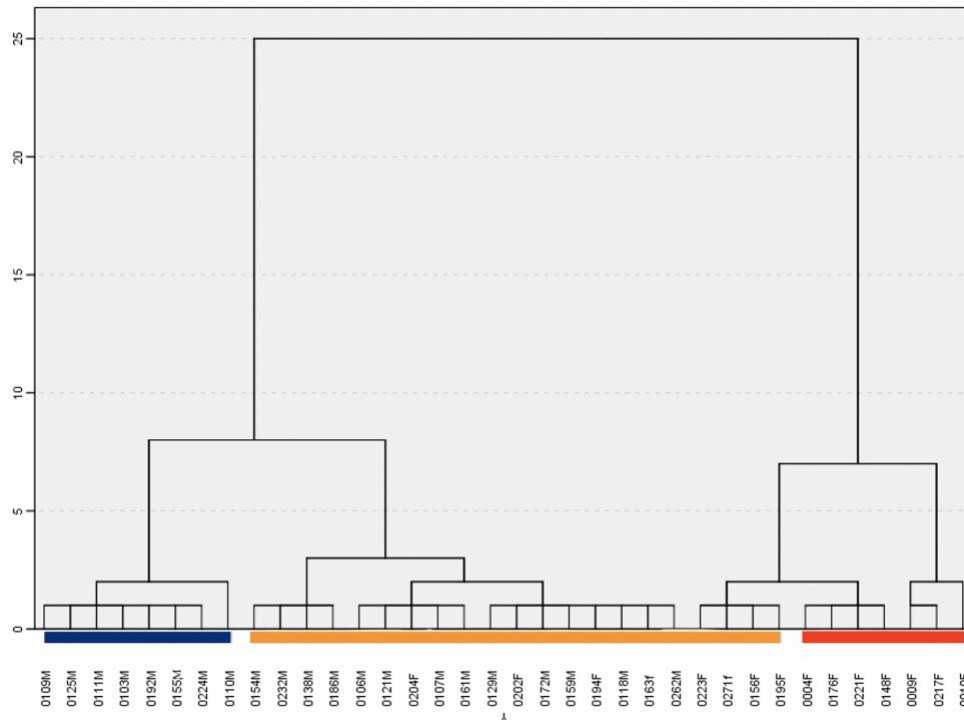


Figura 22: Dendrograma obtingut a partir de l'anàlisi de components principals i de clústers, per classificar els exemplars de raor en funció del cronotip en el període prereproductiu. S'han representat en color blau els subjectes amb un cronotip avançat, de color vermell els retardats i de color taronja els indefinits.

La figura 23 representa la mateixa classificació però a partir de les dades d'activitat motora del període reproductiu, agrupant també els individus en funció del seu cronotip: avançat (n=10: 27,78%), indefinit (n=15: 41,67%) o retardat (n=11: 30,55%); majoritàriament mascles en el cas dels exemplars en cronotip retardat.

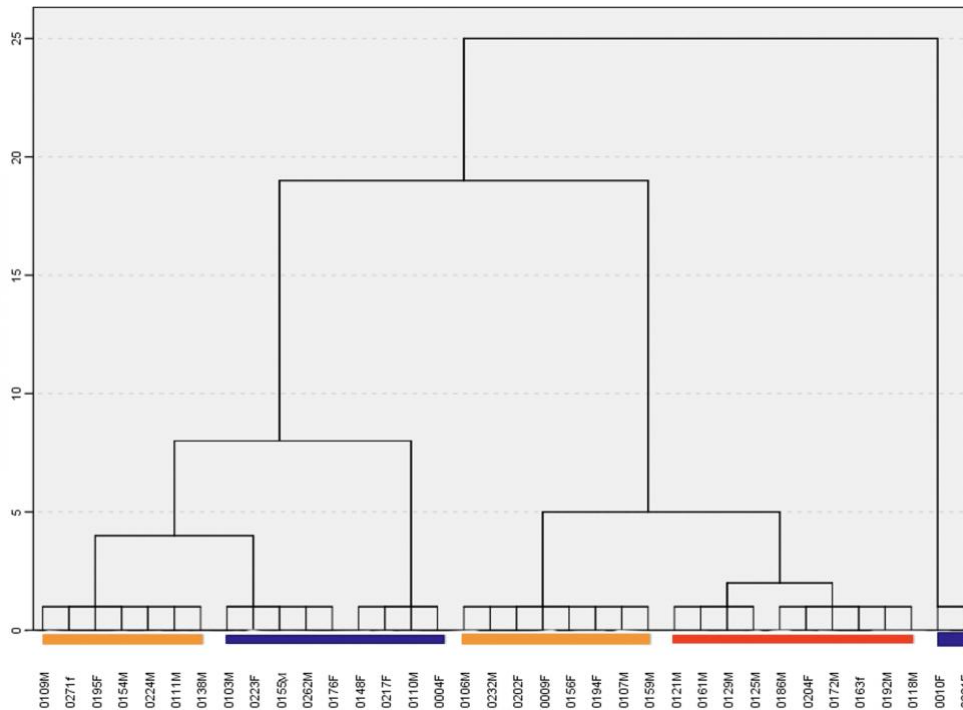


Figura 23: Dendrograma obtingut a partir de l'anàlisi de components principals i de clústers, per classificar els exemplars de raor envers el cronotip en el període reproductiu. S'han representat en color blau els subjectes amb un cronotip avançat, de color vermell els retardats i de color taronja els indefinits.

De la classificació aconseguida dels dendrogrames, s'ha realitzat l'agrupament en funció del cronotip tant al període prereproductiu com al reproductiu. A la figura 24 es representen els diferents cronotips en cada període, mostrant diferències significatives entre el cronotip avançat, indefinit i retardat en ambdós períodes.

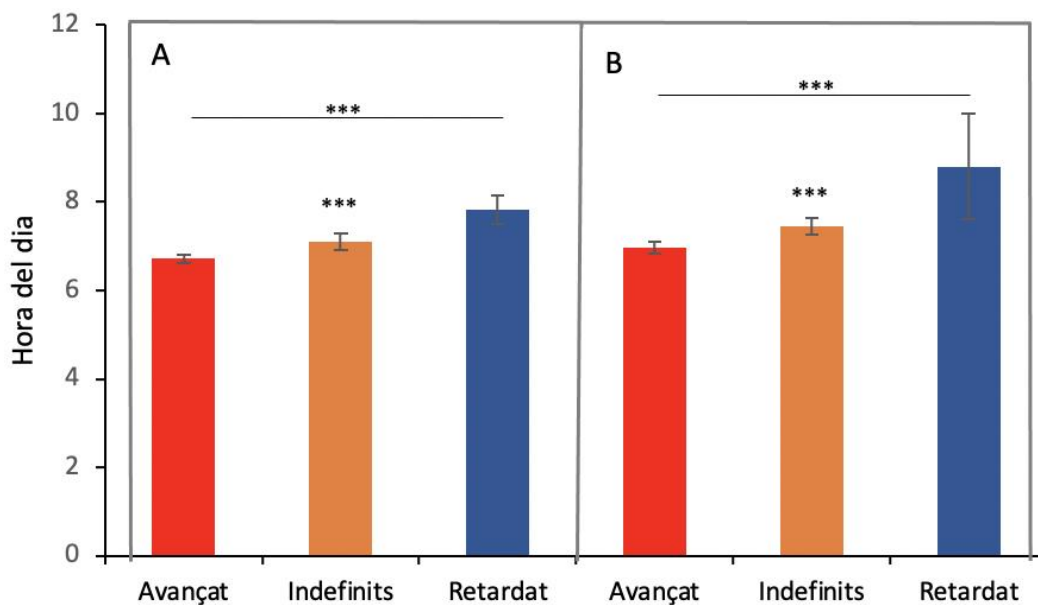


Figura 24: Representació de l'hora d'inici d'activitat motora dels subjectes de *Xyrichthys novacula* en els diferents cronotips tant al període prereproductiu (A) com al reproductiu (B). (***) $p < 0.001$ prova *T* de Wilcoxon).

A partir dels resultats que es mostren a la figura 24 s'observa que, durant el període prereproductiu, el grup de peixos classificats amb un cronotip avançat adelanten l'inici de la seva activitat motora en 22,5 minuts respecte als indefinits, mentre que el grup amb cronotip retardat retrasen l'inici d'activitat en 43,5 minuts. Pel que fa al període reproductiu, el grup amb cronotip avançat adelanta 29,23 minuts i el grup amb cronotip retardat retrasen 80,69 minuts.

5. DISCUSSIÓ

El ritme circadià juga un paper fonamental en la regulació de les funcions biològiques, entre elles les preferències pel ritme son-vigília. A partir d'aquestes es poden definir trets de personalitat com són els cronotips matutí o avançat, indefinit i vespertí o retardat, en funció de la distribució de l'activitat diària.

En humans s'han fet molts estudis que defineixen aquests tres conceptes, ja sigui mitjançant registres d'activitat recollits amb sistemes d'activimetria [Rubiño *et al.*, 2020], o bé contestant qüestionaris com el d'Horne i Otsberg. Aquest consta de 19 preguntes i, a partir del resultat obtingut, es determina el cronotip [Horne & Östberg, 1976]. Recentment, el qüestionari de Munich [Juda *et al.*, 2013] dóna una classificació més acurada, i permet diferenciar la influència en el cronotip dels horaris dels dies feiners en vers als festius, i si es realitza una activitat laboral diürna o per torns de feina.

Els registres d'activitat són una eina recent en peixos [Aspillaga *et al.*, 2021]. L'anàlisi de les dades enregistrades de l'activitat del raor, recollides en el projecte CLOCKS, demostren que en aquest grup d'exemplars existeixen diferents cronotips en funció de l'hora a la que s'inicia l'activitat motora, fet que permet classificar-los en avançats, indefinits i retardats. Els valors d'Onset i Offset així com l'anàlisi pel mètode del cosinor, mostren l'existència d'un ritme circadià ben definit i sincronitzat per l'ambient, coincidint el moment d'activitat amb les hores de llum i el període de repòs amb les hores de fosc.

La majoria de peixos presenta una reproducció estacional i periòdica, apareixent la descendència en l'època més adequada per garantir una major supervivència [Cardinale *et al.*, 1998]: per tant, en aquest cas parlem d'un ritme circannual. Les diferències observades entre períodes dels paràmetres definitoris de cronotip (Onset, Offset i Centre de Gravetat) poden ser degudes a la natura endògena dels ritmes biològics, però també a l'efecte sincronitzador de diversos components ambientals com són la llum, temperatura, nutrients, etc..

La duració de les hores de llum és una de les principals fonts ambientals que empren els peixos per sincronitzar i coordinar el seu període de reproducció (14 hores amb 30 minuts al període prereproductiu i 14 hores amb 45 minuts al període reproductiu dels peixos estudiats) [Boujard *et al.*, 1990]. A més, com a resultat de la influència de la llum, la melatonina sembla tenir el paper tant d'oscil·lador pel fet de determinar la periodicitat de la posta, com d'antioxidant en

el control de la maduració final dels ous. S'ha descrit l'existència de diferents patrons en la secreció nocturna de melatonina, de manera que aquests varien estacionalment amb la reproducció, i així el cicle diari de melatonina regula tant l'activitat locomotora dels peixos com el període òptim de reproducció [Maitra & Hasan, 2016]. Això explicaria les petites variacions pel que fa al moment d'inici de l'activitat, el moment de màxima activitat i el darrer moment d'activitat del dia entre els dos períodes estudiats.

En el cas de l'Offset, que es relaciona amb el moment d'inici de l'etapa de repòs, s'observa que hi ha diferències en vers a l'etapa fisiològica estudiada, sense poder esbrinar si és conseqüència de l'etapa reproductora o de la sincronització amb el canvi horari de la posta de sol entre els dos períodes.

Analitzant les diferències entre sexes, tant en els paràmetres definitoris de cronotip com en les variables rítmiques, en ambdós períodes s'observa un avançament de l'activitat dels mascles respecte a les femelles. Diferents estudis descriuen les poblacions de raor explicant el paper dominant i agressiu que presenten els mascles durant el període de reproducció [Martorell-Barceló *et al.*, 2012]. Relacionat amb aquest tret de personalitat, diversos estudis remarquen que l'activitat del raor es veu directament relacionada amb el comportament i la personalitat dels individus [Alós *et al.*, 2017]. Els raors viuen formant harems d'un mascle dominant amb un elevat nombre de femelles, de manera que aquells tenen un paper protector, seguint diferents estratègies que poden ser tant mantenir a altres mascles allunyats del seu harem com protegir a les femelles del seu propi harem [Cardinale *et al.*, 1998]. Això explica les diferències observades entre els sexes, ja que seria indicatiu de que els mascles inicien la seva activitat abans que les femelles per a protegir-les i defensar-les d'altres mascles, a més d'haver d'avançar la seva activitat per a defensar el seu harem front a relacions de competència amb altres del mateix sexe.

6. CONCLUSIONS

- Del conjunt de dades analitzades, el moment d'iniciar l'activitat (Onset) i el Centre de Gravetat (CG), són les que millor defineixen el cronotip de la població estudiada de raor, *Xyrichthys novacula*.
- L'activitat motora es veu incrementada en els exemplars femelles
- Considerats tots els exemplars de *Xyrichthys novacula* junts, s'obtenen diferències significatives entre els períodes prereproductiu i reproductiu amb una tendència general a retardar l'activitat motora tant en acrofase, Onset, Offset i Centre de Gravetat.
- En funció del sexe, els mascles presenten avançament de ritme d'activitat respecte a les femelles, tant al període reproductiu com el prereproductiu.

- L'anàlisi dels resultats obtinguts dona un retard generalitzat i significatiu de l'activitat motora en el període prereproductiu respecte al reproductiu. al comparar els dos períodes contemplats.

7. LIMITACIONS DEL TREBALL

- La mida mostral. En posteriors treballs, si la mida mostral fos major, les conclusions i els valors dels estadístics pertinents serien més representatius.
- El seguiment. Hauria de ser al llarg de tot l'any, per tenir en compte les transicions des de que l'individu és femella fins que es converteix en mascle.
- Canvis de cronotip. Analitzar com determinats subjectes canvien de cronotip en vers als períodes reproductors estudiats.

8. AGRAÏMENTS

Al meu tutor Antoni Gamundí per la paciència, l'esforç i la confiança que ha posat en mi i per ajudar-me a elaborar aquest treball de la millor manera possible. A més m'agradaria mencionar al meu company José Manuel Pujol, per l'ajut i facilitat que m'ha proporcionat en tot moment en l'elaboració d'aquest treball.

Al grup de recerca del l'Institut Mediterrani d'Estudis Avançats (IMEDEA, CSIC-UIB) involucrat en el projecte CLOCKS, encapçalat per el Dr. Josep Alós, per les dades i per tota la informació que m'han facilitat per a poder desenvolupar aquest treball.

9. REFERÈNCIES

Alós, J., Martorell-Barceló, M., & Campos-Candela, A. (2017). Repeatability of circadian behavioural variation revealed in free-ranging marine fish. *Royal Society Open Science*, 4(2), 160791.

Aspillaga, E., Arlinghaus, R., Martorell-Barceló, M., Follana-Berná, G., Lana, A., Campos-Candela, A., & Alós, J. (2021). Performance of a novel system for high-resolution tracking of marine fish societies. *Animal Biotelemetry*, 9(1), 1-14.

BOE-MAPA (2000) Orden de 12 de abril de 2000. BOE núm. 99 de 25 de Abril de 2000.

BOIB-Conselleria d'Agricultura i Pesca (2002). Decret 61/2002, de 19 d'abril. BOIB núm. 51 de 27 d'abril de 2002.

- Boujard, T., Keith, P., & 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. *Journal of Fish Biology*, *36*(2), 133-140.
- Cardinale, M., Colloca, F., & Ardizzone, G. D. (1998). Growth and reproduction of *Xyrichtys novacula* (Pisces: *Labridae*) in the Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, *62*(3), 193-201.
- Castanheira, M. F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L. E., & Martins, C. I. (2013). Can we predict personality in fish? Searching for consistency over time and across contexts. *PLoS One*, *8*(4), e62037.
- Castriota, L., Scarabello, M. P., Finoia, M. G., Sinopoli, M., & Andaloro, F. (2005). Food and feeding habits of pearly razorfish, *Xyrichtys novacula* (Linnaeus, 1758), in the southern Tyrrhenian Sea: variation by sex and size. *Environmental Biology of Fishes*, *72*(2), 123-133.
- Cloninger, C. R. (1994). Temperament and personality. *Current opinion in neurobiology*, *4*(2), 266-273.
- Conrad, J. L., Weinersmith, K. L., Brodin, T., Saltz, J. B., & Sih, A. (2011). Behavioural syndromes in fishes: a review with implications for ecology and fisheries management. *Journal of fish biology*, *78*(2), 395-435.
- Díez-Noguera, A. (2013). Methods for serial analysis of long time series in the study of biological rhythms, *Journal circadian rhythms*.*11*(7), 1-19.
- Falcón, J., Besseau, L., Magnanou, E., Herrero, M. J., Nagai, M., & Boeuf, G. (2011). Melatonin, the time keeper: biosynthesis and effects in fish. *Cybium*, *35*(1), 3-18.
- Falcon, J., Migaud, H., Munoz-Cueto, J. A., & Carrillo, M. (2010). Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *General and comparative endocrinology*, *165*(3), 469-482.
- Frøland Steindal, I. A., & Whitmore, D. (2019). Circadian clocks in fish—what have we learned so far?. *Biology*, *8*(1), 17.
- Giannetto C, Casella S, Caola G, Piccione G. (2012). Photic and non-photic entrainment on daily rhythm of locomotor activity in gotas. *Anim Sci J*. *8*,122–128.
- Golombek, D. A., & Yannielli, P. C. (2006). Organización del sistema circadiano en vertebrados. A: *Cronobiología Básica y Clínica*. Madrid; Editec@ Red SL, 191-222.
- Greer, S., & McMichael, (2010). The juvenile salmon acoustic telemetry system: a new tool. Author's reply. *Fisheries*, *35*(3), 144-145.
- Halberg, F. (1969). Chronobiology. *Annual review of physiology*, *31*(1), 675-726.
- Hastings, M. H., Reddy, A. B., & Maywood, E. S. (2003). A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *4*(8), 649-661.

- Helm, B., Visser, M. E., Schwartz, W., Kronfeld-Schor, N., Gerkema, M., Piersma, T., & Bloch, G. (2017). Two sides of a coin: ecological and chronobiological perspectives of timing in the wild. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1734), 20160246.
- Horne, J. A., & Ostberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International journal of chronobiology*, *4*(2), 97–110.
- Isorna, E., de Pedro, N., Valenciano, A. I., Alonso-Gómez, Á. L., & Delgado, M. J. (2017). Interplay between the endocrine and circadian systems in fishes. *Journal of Endocrinology*, *232*(3), R141-R159.
- Jud, C., Schmutz, I., Hampp, G., Oster, H., & Albrecht, U. (2005). A guideline for analyzing circadian wheel-running behavior in rodents under different lighting conditions. *Biological procedures online*, *7*(1), 101-116.
- Juda, M., Vetter, C., & Roenneberg, T. (2013). The Munich chronotype questionnaire for shift-workers (MCTQShift). *Journal of biological rhythms*, *28*(2), 130-140.
- Katsanevakis, S. (2005). Habitat use by the pearly razorfish, *Xyrichtys novacula* (Pisces: Labridae). *Scientia Marina*, *69*(2), 223-229.
- Li, J., You, X., Bian, C., Yu, H., Coon, S. L., & Shi, Q. (2016). Molecular evolution of aralkylamine N-acetyltransferase in fish: A genomic survey. *International journal of molecular sciences*, *17*(1), 51.
- Madrid Pérez, J. A., & Rol de Lama, M. (2015). Ritmos, relojes y relojeros. Una introducción a la Cronobiología. *Eubacteri*, *33*, 1-8.
- Maitra, S. K., & Hasan, K. N. (2016). The role of melatonin as a hormone and an antioxidant in the control of fish reproduction. *Frontiers in endocrinology*, *7*, 38.
- Martorell-Barcelo, M., Campos-Candela, A., & Alos, J. (2018). Fitness consequences of fish circadian behavioural variation in exploited marine environments. *PeerJ*, *6*, e4814.
- Montaruli, A., Castelli, L., Mulè, A., Scurati, R., Esposito, F., Galasso, L., & Roveda, E. (2021). Biological rhythm and chronotype: new perspectives in health. *Biomolecules*, *11*(4), 487.
- Moore-Ede, M. C., Sulzman, F. M., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1982). *The clocks that time us: physiology of the circadian timing system*. Harvard University Press.
- Randler, C. (2014). Sleep, sleep timing and chronotype in animal behaviour. *Animal Behaviour*, *94*, 161-166.

- Refinetti, R., Cornélissen, G., & Halberg, F. (2007). Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. *Biological rhythm research*, 38(4), 275-325.
- Rietveld, W. J. (1992). The circadian network are feedback loops to the circadian oscillator of any functional importance to its control function. *Journal of interdisciplinary cycle research*, 23(3), 140-142.
- Roenneberg, T., Pilz, L. K., Zerbini, G., & Winnebeck, E. C. (2019). Chronotype and social jetlag: a (self-) critical review. *Biology*, 8(3), 54.
- Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., & Mrosovsky, M. (2003). Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *Journal of biological rhythms*, 18(1), 80-90.
- Rubiño, J. A., Gamundí, A., Akaarir, M., Canellas, F., Rial, R., & Nicolau, M. C. (2020). Bright light therapy and circadian cycles in institutionalized elders. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 359.
- Saha, S., Singh, K. M., & Gupta, B. B. P. (2019). Melatonin synthesis and clock gene regulation in the pineal organ of teleost fish compared to mammals: Similarities and differences. *General and comparative Endocrinology*, 279, 27-34.
- Slat, E., Freeman, G. M., & Herzog, E. D. (2013). The clock in the brain: neurons, glia, and networks in daily rhythms. A: *Circadian clocks*, 105-123.
- Spoelstra, K. (2018). ChronoShop 1.1 for the analysis of circadian properties of behaviour. <https://dataverse.nl/dataset.xhtml?persistentId=hdl:10411/YHJEFV>
- Toth, L. A., & Bhargava, P. (2013). Animal models of sleep disorders. *Comparative medicine*, 63(2), 91-104.
- Touitou, Y., & Haus, E. (1994). Aging of the human endocrine and neuroendocrine time structure. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 719(1), 378-397.
- Vaquero-Sunyer, R., Barrientos, N., Vivó, T., & Alós, P. (2020). Abundancia relativa de raors (*Xyrichthys novacula*). *Informe Mar Balear*. <https://www.informemarbalear.org/wp-content/uploads/2021/02/imb-raor-esp.pdf>
- Zhdanova, I. V., & Reeb, S. G. (2006). Circadian rhythms in fish. *Fish physiology*, 24, 197-238.

