

INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISION INTERAMERICANA DEL ATUN TROPICAL

Bulletin—Boletín

Vol. 22, No. 1

**EARLY LIFE HISTORY STUDIES OF YELLOWFIN TUNA,
*THUNNUS ALBACARES***

- I. FOOD SELECTION OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*,
LARVAE REARED IN THE LABORATORY
- II. AGE VALIDATION AND GROWTH OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS
ALBACARES*, LARVAE REARED IN THE LABORATORY

**ESTUDIOS DEL CICLO VITAL TEMPRANO DEL ATUN ALETA AMARILLA,
*THUNNUS ALBACARES***

- I. SELECCION DE ALIMENTO POR LARVAS DE ATUN ALETA AMARILLA,
THUNNUS ALBACARES, CRIADAS EN EL LABORATORIO
- II. VALIDACION DE LA EDAD Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL ATUN ALETA
AMARILLA, *THUNNUS ALBACARES*, CRIADAS EN EL LABORATORIO

La Jolla, California

2001

The Inter-American Tropical Tuna Commission (IATTC) operates under the authority and direction of a convention originally entered into by Costa Rica and the United States. The convention, which came into force in 1950, is open to adherence by other governments whose nationals fish for tropical tunas in the eastern Pacific Ocean. Under this provision Panama adhered in 1953, Ecuador in 1961, Mexico in 1964, Canada in 1968, Japan in 1970, France and Nicaragua in 1973, Vanuatu in 1990, Venezuela in 1992, El Salvador in 1997, and Guatemala in 2000. Canada withdrew from the Commission in 1984.

Additional information about the IATTC and its publications can be found on the inside back cover of this report.

COSTA RICA

George Heigold
Herbert Nanne

ECUADOR

Luis Torres Navarrete
Rafael Trujillo Bejarano

EL SALVADOR

FRANCE

Renaud Collard
Paul Mennecier
Jean-Christophe Paille
Julien Turenne

GUATEMALA

JAPAN

Yoshiaki Ito
Daishiro Nagahata
Yamato Ueda

MEXICO

Guillermo Compeán Jiménez
Mara Angélica Murillo Correa

La Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT) funciona bajo la autoridad y dirección de una convención establecida originalmente por Costa Rica y los Estados Unidos. La Convención, vigente desde 1950, está abierta a la afiliación de otros gobiernos cuyos ciudadanos pescan atunes en el Océano Pacífico oriental. Bajo esta estipulación, Panamá se afilió en 1953, Ecuador en 1961, México en 1964, Canadá en 1968, Japón en 1970, Francia y Nicaragua en 1973, Vanuatu en 1990, Venezuela en 1991, El Salvador en 1997, y Guatemala en 2000. Canadá se retiró de la Comisión en 1984.

Información adicional sobre la CIAT y sus publicaciones puede ser encontrada en la parte interna posterior de la cubierta de este informe.

NICARAGUA

Miguel A. Marengo U.
Sergio Martínez Casco

PANAMA

Arnulfo L. Franco Rodríguez

USA — EE.UU.

Barbara H. Britten
M. Austin Forman
Rebecca Lent
James T. McCarthy

VANUATU

John Roosen
A. N. Tillett
Edward E. Weissman

VENEZUELA

Carolina Beltrán
Ricardo Molinet
Francisco Ortisi, Jr.
Jean-François Pulvenis

Director

Robin L. Allen

Headquarters and Main Laboratory—Oficina y Laboratorio Principal
Scripps Institution of Oceanography
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.
www.iattc.org

INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION

COMISION INTERAMERICANA DEL ATUN TROPICAL

Bulletin—Boletín

Vol. 22, No. 1

EARLY LIFE HISTORY STUDIES OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*

- I. FOOD SELECTION OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*,
LARVAE REARED IN THE LABORATORY**
- II. AGE VALIDATION AND GROWTH OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS
ALBACARES*, LARVAE REARED IN THE LABORATORY**

ESTUDIOS DEL CICLO VITAL TEMPRANO DEL ATUN ALETA AMARILLA, *THUNNUS ALBACARES*

- I. SELECCION DE ALIMENTO POR LARVAS DE ATUN ALETA AMARILLA,
THUNNUS ALBACARES, CRIADAS EN EL LABORATORIO**
- II. VALIDACION DE LA EDAD Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL ATUN ALETA
AMARILLA, *THUNNUS ALBACARES*, CRIADAS EN EL LABORATORIO**

La Jolla, California

2001

CONTENTS—INDICE

PREFACE—PREFACIO

by—por

Daniel Margulies

| | |
|--|---|
| PREFACE | 5 |
| PREFACIO | 6 |
| LITERATURE CITED—BIBLIOGRAFIA CITADA | 7 |

**I. FOOD SELECTION OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*,
LARVAE REARED IN THE LABORATORY**

**SELECCION DE ALIMENTO POR LARVAS DE ATUN ALETA AMARILLA,
THUNNUS ALBACARES, CRIADAS EN EL LABORATORIO**

by—por

**Daniel Margulies, Jeanne B. Wexler, Kevin T. Bentler, Jenny M. Suter, Shukei Masuma,
Nobuhiro Tezuka, Kazuhisa Teruya, Masakazu Oka, Masaei Kanematsu, and Hideki Nikaido**

| | |
|---|----|
| ABSTRACT | 9 |
| INTRODUCTION | 10 |
| METHODS AND MATERIALS | 10 |
| Collection of eggs and larvae | 10 |
| Feeding experiments | 11 |
| Sample analyses | 12 |
| Data analyses | 12 |
| RESULTS | 14 |
| Size composition of eggs and larvae | 14 |
| Prey assemblages | 14 |
| Swimming and feeding behavior of larvae | 14 |
| Diet composition | 15 |
| Numbers of prey | 15 |
| Relationship between prey size and larval mouth width | 15 |
| Prey selection | 16 |
| Prey energetics | 16 |
| DISCUSSION | 16 |
| Prey selection | 16 |
| Swimming and feeding behavior | 17 |
| Potential effects of microturbulence on feeding | 18 |
| Prey energetics | 19 |
| Rearing diets | 20 |
| Yellowfin early life history | 20 |
| ACKNOWLEDGEMENTS | 21 |

| | |
|------------------------------|----|
| FIGURES—FIGURAS | 22 |
|------------------------------|----|

| | |
|----------------------------|----|
| TABLES—TABLAS | 31 |
|----------------------------|----|

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 34 |
| INTRODUCCION | 35 |
| METODOS Y MATERIALES | 36 |
| Colección de huevos y larvas | 36 |
| Experimentos de alimentación | 36 |
| Análisis de las muestras | 37 |
| Análisis de datos | 37 |
| RESULTADOS | 40 |
| Composición por tamaño de los huevos y larvas | 40 |
| Combinaciones de presas | 40 |
| Comportamiento de natación y alimentación de las larvas | 40 |
| Composición de la dieta | 40 |
| Número de presas | 41 |
| Relación entre el tamaño de la presa y el ancho de la boca de las larvas | 41 |
| Selección de presas | 41 |
| Energética de las presas | 42 |
| DISCUSION | 42 |
| Selección de presas | 42 |
| Comportamiento de natación y alimentación | 43 |
| Efectos potenciales de la microturbulencia sobre la alimentación | 44 |
| Energética de las presas | 45 |
| Dietas de cría | 46 |
| El ciclo vital temprano del atún aleta amarilla | 46 |
| RECONOCIMIENTOS | 47 |

LITERATURE CITED-BIBLIOGRAFIA CITADA 47

**II. AGE VALIDATION AND GROWTH OF YELLOWFIN TUNA,
THUNNUS ALBACARES, LARVAE REARED IN THE LABORATORY**

**VALIDACION DE LA EDAD Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL ATUN ALETA AMARILLA,
THUNNUS ALBACARES, CRIADAS EN EL LABORATORIO**

by—por

**Jeanne B. Wexler, Daniel Margulies, Shukei Masuma, Nobuhiro Tezuka, Kazuhisa Teruya,
Masakazu Oka, Masaei Kanematsu, and Hideki Nikaido**

| | |
|---|----|
| ABSTRACT | 52 |
| INTRODUCTION | 52 |
| METHODS AND MATERIALS | 54 |
| Experimental procedures | 54 |
| Laboratory procedures and data analyses | 55 |
| Otolith preparation and procedures | 55 |
| RESULTS | 56 |
| Development | 56 |
| Survival | 56 |
| Effects of fixation and preservation | 56 |

| | |
|---|----|
| Age validation | 56 |
| Growth | 57 |
| DISCUSSION | 59 |
| Otolith growth increments | 59 |
| Temperature effects on development, survival, and growth. | 60 |
| Larval and late-larval growth. | 62 |
| ACKNOWLEDGEMENTS | 63 |

| | |
|----------------------------------|----|
| FIGURES—FIGURAS | 64 |
|----------------------------------|----|

| | |
|--------------------------------|----|
| TABLES—TABLAS | 69 |
|--------------------------------|----|

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 72 |
| INTRODUCCION | 72 |
| METODOS Y MATERIALES | 74 |
| Procedimientos experimentales | 74 |
| Procedimientos de laboratorio y análisis de los datos | 75 |
| Preparación de los otolitos y procedimientos | 76 |
| RESULTADOS | 77 |
| Desarrollo | 77 |
| Supervivencia | 77 |
| Efectos de la fijación y conservación. | 77 |
| Validación de la edad. | 77 |
| Crecimiento | 78 |
| DISCUSION | 80 |
| Crecimiento de los incrementos en los otolitos. | 80 |
| Efectos de la temperatura sobre desarrollo, supervivencia, y crecimiento. | 81 |
| Crecimiento larval y larval tardío | 83 |
| RECONOCIMIENTOS | 85 |

| | |
|---|----|
| LITERATURE CITED-BIBLIOGRAFIA CITADA | 85 |
|---|----|

PREFACE

by

Daniel Margulies

The yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, occurs worldwide in tropical and subtropical seas (absent only from the Mediterranean Sea), and supports major fisheries throughout its range (Collette and Nauen, 1983). The worldwide catch of yellowfin during 1996 totalled 985,460 metric tons (MT), with approximately 60 percent of the total (593,000 MT) caught in the Pacific Ocean (FAO, 1998).

Many aspects of the biology and population structure of adult yellowfin from the Pacific Ocean have been investigated (summarized by Suzuki, 1994b and Wild, 1994). In the eastern Pacific Ocean (EPO), yellowfin are recruited to the fishery at a fork length (FL) of approximately 30 cm and at approximately 0.5 years of age (Anonymous, 1994). Recruitment in the EPO has fluctuated by a factor of 3 over the period 1967-1996, and stock-recruitment analyses have indicated either no clear relationship between stock size and recruitment levels (Anonymous, 1998: Figure 42) or a pattern suggesting density-dependence in pre-recruit survival (R. Deriso, *pers. comm.*). Mechanisms that may control recruitment strength in the EPO have not been studied (Anonymous, 1998). In the western Pacific, the environmental factors which may affect yellowfin recruitment (independent of the fisheries) are poorly understood (Suzuki, 1994a). There is a strong need for information which clarifies the relationship between environmental and biotic factors and pre-recruit survival of yellowfin.

For most marine fish species, recruitment strength is controlled by survival during the egg, larval, or early-juvenile life stages (Houde, 1987, 1989). The most important sources of mortality during early life stages include starvation, predation and unfavorable physical conditions that may be encountered when eggs or larvae are distributed into unsuitable habitats (Houde, 1987). Marine fishes exhibit high fecundity and are subject to high rates of natural mortality during pre-recruit stages (Hunter, 1981; Houde, 1989). Mortality may operate on the egg, larval, or juvenile stages as either density-dependent or density-independent processes (Rothschild, 1986). Probability of survival to recruitment stages can be studied in terms of pre-recruit starvation and growth rates, or as a single process involving nutrition- or growth-related predation mortality operating over an extended period of time prior to recruitment (Cushing, 1975; Houde, 1987).

Tunas, because of their high indeterminate fecundity and batch spawning mode, appear to represent a life history pattern characterized by high annual production of larvae and high rates of pre-recruit mortality. Yellowfin in the Pacific Ocean exhibit batch fecundities in excess of 1 million oocytes per female and spawn nearly daily during their reproductively-active periods (Joseph, 1963; McPherson, 1991; Schaefer, 1996, 1998). This pattern of reproduction has strong potential for regulation of recruitment during pre-juvenile stages, when initial numbers in a cohort are large and vital rates (*e.g.* growth, mortality) are high (Houde, 1987). Estimates of total instantaneous mortality for tuna larvae are among the highest recorded for marine fish larvae, often exceeding 0.4 day^{-1} (Davis *et al.*, 1991, Lang *et al.*, 1994). Starvation mortality alone can exceed instantaneous rates of 0.4 day^{-1} for tropical tuna larvae during certain years and seasons in the Panama Bight (Margulies, 1993). There is also potential for regulation of numbers of recruits during the relatively long juvenile stage of tunas. For example, at juvenile metamorphosis (~ 15 mm standard length (SL)), yellowfin tuna have attained approximately 5 percent of their size at recruitment (length or weight), and less than 2 percent of their reproductive size. Since the duration of the juvenile stage is long and the absolute growth attained is high, potential also exists for regulation of numbers via growth-mediated juvenile mortality (Houde, 1987).

In order to gain more insight into the factors controlling pre-recruit survival in yellowfin, joint studies were initiated in 1992 to examine aspects of the early life history. The research was carried out

by scientists of the Inter-American Tropical Tuna Commission (IATTC) and the Japan Sea Farming Association (JASFA) and took place at the Yaeyama Station of JASFA on Ishigaki Island, Okinawa Prefecture, Japan. The studies were supported by the Overseas Fishery Cooperation Foundation (OFCF) of Japan and The Federation of Japan Tuna Fisheries Cooperative Associations. These studies represented the first experiments conducted as part of an ongoing joint project to investigate the early life history of tunas. The initial experiments centered on two areas of study: (1) food selection of first-feeding yellowfin larvae; and (2) age validation and growth of yellowfin larvae. The results of each study are presented as separate papers in this Bulletin.

PREFACIO

por

Daniel Margulies

El atún aleta amarilla, *Thunnus albacares*, ocurre en todos los mares tropicales y subtropicales del mundo (con la excepción del Mar Mediterráneo), y sostiene pesquerías importantes en toda su zona de distribución (Collette y Nauen, 1983). De la captura total mundial de aleta amarilla de 985.460 toneladas durante 1996, aproximadamente el 60% (593.000 toneladas) provino del Océano Pacífico (FAO, 1998).

Muchos aspectos de la biología y estructura de poblaciones del aleta amarilla adulto del Océano Pacífico han sido investigados (resumidos por Suzuki, 1994b, y Wild, 1994). En el Océano Pacífico oriental (OPO), los aletas amarillas son reclutados a la pesquería a una talla furcal (TF) de aproximadamente 30 cm y a aproximadamente 0,5 años de edad (Anónimo, 1994). El reclutamiento en el OPO ha variado por un factor de 3 durante el periodo de 1967-1996, y los análisis de reclutamiento señalan una falta de relación clara entre el tamaño del stock y los niveles de reclutamiento (Anónimo, 1998: Figura 42) o si no un patrón que sugiere una dependencia de la densidad en la supervivencia anterior al reclutamiento (R. Deriso, *com. pers.*). No se han estudiado los mecanismos que tal vez controlen la fuerza del reclutamiento en el OPO (Anónimo, 1998). En el Pacífico occidental, se sabe poco acerca de los factores ambientales que quizá afecten el reclutamiento del aleta amarilla (independientes de la pesca) (Suzuki, 1994a). Hay una gran necesidad de información que escalrezca la relación entre los factores ambientales y bióticos y la supervivencia del aleta amarilla antes del reclutamiento.

Para la mayoría de las especies de peces marinos, la fuerza del reclutamiento es controlada por la supervivencia durante las etapas de huevo, larval, o juvenil del ciclo vital (Houde, 1987, 1989). Las causas más importantes de mortalidad durante las etapas tempranas incluyen la inanición, depredación y condiciones físicas contrarias que pueden ocurrir cuando los huevos o larvas están distribuidos en hábitas inadecuados (Houde, 1987). Los peces marinos demuestran una fecundidad elevada y están sujetos a tasas altas de mortalidad natural durante las etapas anteriores al reclutamiento (Hunter, 1981; Houde, 1989). La mortalidad puede operar sobre las etapas de huevo, larval, o juvenil en forma de procesos dependientes o independientes de la densidad (Rothschild, 1986). Se puede estudiar la probabilidad de supervivencia hasta las etapas de reclutamiento en términos de tasas de inanición y crecimiento antes del reclutamiento, o como un solo proceso en el cual una mortalidad por depredación, relacionada con la nutrición o el crecimiento, opera durante un período extendido antes del reclutamiento (Cushing, 1975; Houde, 1987).

Los atunes, debido a su alta fecundidad indeterminada y su desove por lote, parecen representar un patrón de ciclo vital caracterizado por una alta producción anual de larvas y tasas altas de mortalidad anterior al reclutamiento. Las hembras de aleta amarilla en el Océano Pacífico son capaces de poner más de un millón de ovocitos cada vez que desovan, y desovan casi diariamente durante sus

periodos de actividad reproductora (Joseph, 1963; McPherson, 1991; Schaefer, 1996, 1998). Este patrón de reproducción tiene un gran potencial para la regulación del reclutamiento durante las etapas prejuveniles, cuando los números iniciales en una cohorte son grandes y las tasas vitales (por ejemplo, crecimiento y mortalidad) son elevadas (Houde, 1987). Las estimaciones de la mortalidad total instantánea para las larvas de atún figuran entre las más altas registradas para larvas de peces marinos, cifrándose a menudo en más de $0,4 \text{ día}^{-1}$ (Davis *et al.*, 1991, Lang *et al.*, 1994). La mortalidad por inanición por sí sola puede superar tasas instantáneas de $0,4 \text{ día}^{-1}$ para las larvas de atunes tropicales durante ciertos años y temporadas en el Recodo de Panamá (Margulies, 1993). Existe también el potencial para la regulación del número de reclutas durante la etapa juvenil relativamente larga de los atunes. Por ejemplo, en la metamorfosis juvenil (talla estándar (TE) ~ 15 mm) los aletas amarillas alcanzan aproximadamente el 5% de su tamaño de reclutamiento (talla o peso), y menos del 2% de su tamaño de reproducción. Ya que la duración de la etapa juvenil es larga y el crecimiento absoluto logrado es alto, existe también el potencial de regulación de los números mediante mortalidad juvenil condicionada por el crecimiento (Houde, 1987).

A fin de obtener mayores conocimientos de los factores que controlan la supervivencia antes del reclutamiento en el aleta amarilla, en 1992 se iniciaron estudios conjuntos para examinar aspectos del ciclo vital temprano. La investigación fue realizada por científicos de la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT) y la Japan Sea Farming Association (JASFA) y tuvo lugar en la Estación Yaeyama de la JASFA en la Isla Ishigaki, Prefectura de Okinawa (Japón). Los estudios fueron apoyados por la Overseas Fishery Cooperation Foundation (OFCF) de Japón y la Federation of Japan Tuna Fisheries Cooperative Associations. Estos estudios representan los primeros experimentos realizados como parte de un proyecto conjunto continuo para investigar el ciclo vital temprano de los atunes. Los experimentos iniciales se centraron en dos áreas de estudio: (1) selección de alimento por larvas de aleta amarilla en primera alimentación; y (2) validación de la edad y crecimiento de larvas de aleta amarilla. Se presentan los resultados de cada estudio por separado en este Boletín.

LITERATURE CITED - BIBLIOGRAFIA CITADA

- Anonymous. 1994. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1993: 316 pp.
- Anonymous, 1998. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1996: 306 pp.
- Collette, B.B., and C.E. Nauen. 1983. FAO species catalogue. Vol. 2. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos, and related species known to date. FAO Fish. Synop. 125, Vol. 2: 137 pp.
- Cushing, D.H. 1975. Marine Ecology and Fisheries. Cambridge Univ. Press, Cambridge: 278 pp.
- Davis, T.L.O., V. Lyne, and G.P. Jenkins. 1991. Advection, dispersion and mortality of a patch of southern bluefin tuna larvae *Thunnus maccoyii* in the East Indian Ocean. Mar. Ecol. Prog. Ser. 73: 33-45.
- FAO. 1998. Catches and landings, 1996. FAO Yearb. Fish. Statist. 82: 678 pp.
- Houde, E.D. 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. Am. Fish. Soc. Symp. 2: 17-29.
- Houde, E.D. 1989. Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 87: 471-495.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. In Lasker, R. (editor), Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries. Washington Sea Grant Program, Seattle, WA: 33-77.

- Joseph, J. 1963. The fecundity of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and skipjack (*Katsuwonus pelamis*) from the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 7: 255-292.
- Lang, K.L., C.B. Grimes, and R.F. Shaw. 1994. Variations in the age and growth of yellowfin tuna larvae, *Thunnus albacares*, collected about the Mississippi River plume. Environ. Biol. Fishes 39: 259-270.
- Margulies, D. 1993. Assessment of the nutritional condition of larval and early juvenile tuna and Spanish mackerel (Pisces: Scombridae) in the Panama Bight. Mar. Biol. 115: 317-330.
- McPherson, G.R. 1991. Reproductive biology of yellowfin tuna in the eastern Australian fishing zone, with special reference to the North-western Coral Sea. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 42: 465-477.
- Rothschild, B.J. 1986. Dynamics of Marine Fish Populations. Harvard Univ. Press, Cambridge: 277 pp.
- Schaefer, K.M. 1996. Spawning time, frequency, and batch fecundity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from Clipperton Atoll in the eastern Pacific Ocean. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 94: 98-112.
- Schaefer, K.M. 1998. Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 21: 205-272.
- Suzuki, Z. 1994a. A review of interaction between purse seine and longline on yellowfin (*Thunnus albacares*) in the western and central Pacific Ocean. FAO Fish. Tech. Paper, 336(1): 158-181.
- Suzuki, Z. 1994b. A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western and central Pacific Ocean. FAO Fish. Tech. Paper, 336(2): 108-137.
- Wild, A. 1994. A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean. FAO Fish. Tech. Paper 336(2): 52-107.

**FOOD SELECTION OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*,
LARVAE REARED IN THE LABORATORY**

by

**Daniel Margulies, Jeanne B. Wexler, Kevin T. Bentler¹, Jenny M. Suter, Shukei Masuma²,
Nobuhiro Tezuka², Kazuhisa Teruya³, Masakazu Oka⁴, Masaei Kanematsu⁵, and Hideki Nikaido⁶**

ABSTRACT

Food selection of first-feeding yellowfin tuna larvae was studied in the laboratory during October 1992. The larvae were hatched from eggs obtained by natural spawning of yellowfin adults held in sea pens adjacent to Ishigaki Island, Okinawa Prefecture, Japan. The larvae were fed mixed-prey assemblages consisting of size-graded wild zooplankton and cultured rotifers.

Yellowfin larvae were found to be selective feeders during the first four days of feeding. Copepod nauplii dominated the diet numerically, by frequency of occurrence and by weight. The relative importance of juvenile and adult copepods (mostly cyclopoids) in the diet increased over the 4-day period. Rotifers, although they comprised 31 to 40 percent of the available forage, comprised less than 2.1 percent of the diet numerically. Prey selection indices were calculated taking into account the relative abundances of prey, the swimming speeds of yellowfin larvae and their prey, and the microscale influence of turbulence on encounter rates. Yellowfin selected for copepod nauplii and against rotifers, and consumed juvenile and adult copepods in proportion to their abundances.

Yellowfin larvae may select copepod nauplii and cyclopoid juveniles and adults based on the size and discontinuous swimming motion of these prey. Rotifers may not have been selected because they were larger or because they exhibit a smooth swimming pattern. The best initial diet for the culture of yellowfin larvae may be copepod nauplii and cyclopoid juveniles and adults, due to the size, swimming motion, and nutritional content of these prey. If rotifers alone are fed to yellowfin larvae, the rotifers should be enriched with a nutritional supplement that is high in unsaturated fatty acids.

Mouth size of yellowfin larvae increases rapidly within the first few days of feeding, which minimizes limitations on feeding due to prey size. Although yellowfin larvae initiate feeding on relatively small prey, they rapidly acquire the ability to add relatively large, rare prey items to the diet. This mode of feeding may be adaptive for the development of yellowfin larvae, which have high metabolic rates and live in warm mixed-layer habitats of the tropical and subtropical Pacific. Our analysis also indicates a strong potential for the influence of microscale turbulence on the feeding success of yellowfin larvae.

Key words: COPEPOD, FISH LARVAE, FOOD SELECTION, MOUTH SIZE, ROTIFER, *THUNNUS ALBACARES*, TURBULENCE, YELLOWFIN TUNA

¹ Present address: 1710 Enchantment Drive, Ft. Collins, CO 80525, USA

² JASFA, Amami Station, 955-5 Hyo Setonti, Oshima-gun, Kagoshima 894-2424, Japan

³ JASFA, Kamiura Station, Tuiura Kamiura, Minamikaifu-gun, Ooita 879-2602, Japan

⁴ OFCF, Sankaido Bldg. 9-13, Akasaka 1, Minato-ku, Tokyo 107-0052, Japan

⁵ JAFSA, Hakatajima Station, 2750 Kinoura Hakata, Ochi-gun, Ehime 794-2305, Japan

⁶ Hyogo Prefecture Sea-Farming Association, 22-1 Minamifutami Futami, Akashi, Hyogo 675-0163, Japan

INTRODUCTION

Yellowfin tuna larvae occur throughout most of the tropical and subtropical areas of the world oceans (Nishikawa *et al.*, 1985), and inhabit waters that vary considerably in secondary production. In the Pacific Ocean, yellowfin larvae are ubiquitous throughout tropical latitudes during most of the year, although their occurrence varies seasonally in subtropical regions (Richards and Simmons, 1971; Boehlert and Mundy, 1994). Histological analysis of the reproductive status of yellowfin in the eastern Pacific Ocean (EPO) indicated a similar geographical pattern of spawning by yellowfin adults (Schaefer, 1998). Spawning in the EPO occurred continuously between 0° and 20°N from the coast to 140°W, while north of 20°N and south of 0° spawning was restricted to times of the year when sea surface temperatures exceeded 24°C. In all oceans, yellowfin larvae have been collected most often at sea surface temperatures of 24.0° to 30.0°C (Richards and Simmons, 1971; Suzuki, 1994). Although widely distributed in the Pacific, yellowfin larvae have rarely been collected in large numbers during oceanic surveys (Klawe, 1963; Ueyanagi, 1969; Ahlstrom, 1971, 1972; Nishikawa *et al.*, 1985).

Yellowfin have been studied in captivity for several decades in Japan, and attempts to culture the young have been summarized by Harada *et al.* (1971), Mori *et al.* (1971), Harada *et al.* (1980), and Kaji *et al.* (1999). Despite published accounts of the oceanic distribution, identification, and limited culture of young yellowfin, surprisingly little information is available on the biology and vital rates during their early life history.

Information on the food habits of yellowfin larvae is scarce. Uotani *et al.* (1981) reported on food selection of yellowfin ranging in size from 2.6 to 11.6 mm standard length (SL) collected in waters north-west of Australia. No breakdown of the diet by larval size was provided. Hornick (1989) reported on the food habits of a few yellowfin larvae (3.5 to 11.5 mm SL) collected in the Straits of Florida. No other information on the food habits of yellowfin larvae is currently available.

Prey selection during the first-feeding stages is a crucial aspect of the feeding ecology and nutrition of yellowfin larvae. The numbers and types of prey consumed during the first days of feeding are critical for the early survival of tuna larvae, particularly at high water temperatures. Margulies (1993) found that the nutritional fate of first-feeding larvae of tropical scombrids in the Panama Bight was decided in the first 1 to 2 days of feeding at water temperatures $> 27.0^{\circ}\text{C}$. Mortality rate estimates for yellowfin suggest that larvae are subject to high daily mortality (Lang *et al.*, 1994), and much of this mortality may be related to feeding and nutrition during the early larval stage.

This study was conducted as part of a laboratory investigation of the feeding, development, and growth of yellowfin larvae. The results of the laboratory studies of growth are presented in the companion paper by Wexler *et al.* (2001). The objectives of the feeding experiments described in this study were: (1) to examine the numbers and types of prey eaten by first-feeding yellowfin larvae when encountering mixed prey assemblages; (2) to characterize the feeding behavior and swimming speeds of first-feeding yellowfin larvae; (3) to conduct a preliminary analysis of the potential effects of microturbulence on the prey selection of yellowfin larvae; and (4) to determine the types of foods that may be best for the culture of yellowfin larvae.

METHODS AND MATERIALS

Collection of eggs and larvae

The experiments were carried out at the Japan Sea Farming Association's (JASFA's) Yaeyama Experimental Station on Ishigaki Island, Okinawa Prefecture, Japan. Ishigaki Island is located at 24° 50'N, 124° 20'E in the Yaeyama Island group, the southernmost group of islands in Japan, located south-west of Okinawa and east of Taiwan (Figure 1). Ishigaki Island is bounded on the north and west by the East China Sea and on the south and east by the Pacific Ocean. The climate of the region is subtropi-

cal, with sea-surface temperatures generally ranging from 22° to 30°C on a yearly basis (JASFA, unpublished data). Since 1986, yellowfin tuna have been held in anchored sea pens in a bay adjacent to Yaeyama Station (Masuma *et al.*, 1993). During 1992, a group of 12 yellowfin, consisting of a mixture of 3- and 6-year-old fish, began spawning in May in a cylindrical sea pen that was 20 m in diameter and 8 m deep. Spawning continued through October of 1992.

The food selection experiment was conducted in mid-October. Fertilized eggs (Figure 2, top panel) were collected from the sea pen at 2130 h on October 10 at a sea-surface temperature of 26.5°C. Eggs were transported to the Yaeyama laboratory and placed in 1000-L capacity, cylindrical hatching tanks; incubation temperatures ranged from 26.0° to 26.9°C. Approximately 22 h after fertilization, over 50 percent of the eggs had hatched (Figure 2, middle panel). Yolk-sac larvae were randomly assigned to two cylindrical, 1.5-m diameter tanks, each containing 300 L of filtered seawater, and initially stocked at densities of 4 larvae L⁻¹. During the yolk-sac period, water temperatures in the tanks ranged from 25.5° to 26.5°C. Approximately 2.5 days after hatching, larvae had developed pigmented eyes and functional mouths, indicating readiness to feed (Figure 2, bottom panel).

Feeding experiments

In the prey selection experiments, first-feeding yellowfin larvae were offered food consisting of nearly-equal mixtures of two types of zooplankton: (1) size-graded, wild zooplankton collected from local waters; and (2) cultured rotifers. Wild prey were combined with cultured rotifers commonly used in mariculture to provide a diverse feeding assemblage for the larvae (Figure 3). The wild zooplankton consisted mainly of copepod nauplii, juvenile and adult copepods, nauplii of other invertebrates, phytoplankton, and tintinnids, and was size-graded between a width of 43 to 261 µm. The rotifers were cultured on the unicellular green alga *Nannochloropsis* sp. and were enriched with squid oil prior to being fed to the larvae. Rotifers ranged in width from 88 to 175 µm. Moderate blooms of *Nannochloropsis* sp. were maintained in the tanks at concentrations of 500,000 cells mL⁻¹. Gentle aeration was provided by airstones to create low-velocity mixing of prey. The turbulence produced by aeration moved non-motile particles at < 0.5 cm sec⁻¹ (measured against rulers placed on the tank walls) in either a horizontal or vertical path. Indirect natural illumination was present in the laboratory from sunrise (0630 h) to 1000 h; fluorescent overhead lights were turned on from 1000 h to 1700 h, and indirect natural illumination occurred again from 1700 h until sunset (1900 h). This lighting schedule provided a stepped photic environment producing the following light levels at a depth of 15 cm in each tank: 0630-1000 h: 70-200 lux; 1000-1700 h: 380-420 lux; 1700-1900 h: 70-200 lux; 1900-0630 h: undetectable levels (< 1 lux).

The duration of the feeding experiment was 4 days. Food concentrations in each tank ranged from 1,500 to 2,000 plankters L⁻¹, and food levels were measured by taking the mean of two 100-mL aliquots taken twice daily. Food concentrations varied ± 10 to 15 percent from nominal (target) levels. Samples of larvae were removed from each tank at 12- to 24-h intervals. Larvae were initially fixed in 10-percent formalin, and then transferred to 5-percent formalin after 24 h for gut content analysis. Concurrently, whole-water aliquots (500 mL) were randomly taken from each tank to measure the relative abundance of each prey type for calculation of indices of prey selectivity. Each aliquot was vacuum filtered through a Buchner funnel, and all zooplankton were concentrated on 35-µm mesh filters and fixed in 5-percent formalin. On Days 3 and 4 of the experiment, additional zooplankton samples were taken at various depths and at the surface of each tank to determine if there were any depth-specific differences in prey abundance that might not be detected by routine aliquot sampling.

Fifty-percent water changes were made daily by slow siphoning and replacement of water through screened PVC tubes placed in each tank. The water changes were made slowly in order to minimize any alterations to the circulation pattern in the tanks. Ammonia levels were measured daily. Feeding trials were run at water temperatures of 25.0° to 26.1°C.

During the first two days of feeding, ~50 larvae from a reserve tank were transferred to glass aquaria to observe swimming behavior and feeding tactics. Sustained swimming speeds and reactive distances were estimated using distance scales placed on the sides of the aquaria; observations were recorded for individual larvae during 15-second intervals. Larvae were also videotaped for analysis of swimming and feeding behaviors. The swimming speeds and reactive distances measured for the reserve larvae in the glass aquaria were assumed to be representative of those of the larvae fed during the four days of the feeding experiment. Water temperatures in the observation aquaria ranged from 26.0° to 26.5°C, and while swimming observations were being made, larvae were fed rotifers at a concentration of 1,000 L⁻¹.

Sample analyses

Body measurements of the yellowfin larvae were made with a stereo dissecting microscope fitted with an ocular micrometer. Total length, notochord length (NL), and mouth width were measured to the nearest 0.1 mm. The alimentary tract of each larva was teased apart in glycerine. Chlorazol Black E stain was added to the glycerine to aid in the identification of prey items (Judkins and Fleminger, 1972). Gut fullness was estimated on a scale of 1 to 5 (1 = empty; 2 = < half full but not empty; 3 = half full; 4 = > half full but < full; 5 = full). The digestion state of each prey item was determined on a scale of 1 to 3 (1 = totally digested; 2 = partially digested; 3 = prey item intact) (Young and Davis, 1990). Prey items were identified to the lowest possible taxa, counted, and measured along their longest and widest axes.

Each zooplankton sample taken for prey selectivity analysis was resuspended to a volume of 200 mL, and five aliquots were randomly taken with a Hensen-Stempel pipette (10-mL volume). All the organisms in each aliquot were identified to the lowest possible taxa, and a subset (20 organisms per taxon per aliquot) was measured for length and weight. The mean counts of the organisms in the aliquots represented the relative number of individuals of each zooplankton taxon in each tank.

Data analyses

The diet of the yellowfin larvae was analyzed in terms of numerical abundance, frequency of occurrence and weight. Numerical abundance of a particular prey type in larval guts was expressed as the percentage of the total number of prey items (%N). The percentage frequency of occurrence of a prey item (%F) was calculated among larvae with food in their guts. The product of both percentages (%N x %F) was calculated as an index of relative importance (N x F) (Govoni *et al.*, 1983). Length and width data for each prey taxon were converted to dry weights using conversion values from Gruzov and Alekseyeva (1970), Chisholm and Roff (1990), and van der Meer (1991), and expressed as the percentage of total prey biomass represented by a particular prey type (%Wt). Dry weights were converted to energy equivalents using conversion factors provided by Theilacker and McMaster (1971) and Laurence (1976). Diet data for replicate tanks were pooled by prey taxon for each day of feeding after testing for homogeneity of variance and differences in mean numerical (percentage) abundance (*t*-test on arcsin-transformed data) (Zar, 1984). Feeding incidence (the percentage of larvae with at least one food item in the gut) and the number of prey per gut were also calculated for each day of feeding. Mean digestion scores of the major prey taxa were compared by nonparametric analysis of variance (Kruskal-Wallis Test) (Zar, 1984) to examine potential taxon-specific differences in rates of digestion.

Prey selection was analyzed using a modification of the *C* index of Pearre (1982). The *C* index is based on a 2 x 2 contingency chi-square analysis of the frequency distribution of prey in the diet versus their distribution in the environment. The index is calculated by first evaluating the chi-square statistic for the frequency distribution of a prey item (species A) as:

$$\chi^2 = \frac{n (| a_d b_e - b_d a_e | - n/2)^2}{a \cdot b \cdot d \cdot e}$$

- a_d = the number of individuals of species A in the diet,
 b_e = the number of individuals of all other species in the environment,
 b_d = the number of individuals of all other species in the diet,
 a_e = the number of individuals of species A in the environment,
 a = the number of individuals of species A in the diet and the environment,
 b = the number of individuals of all other species in the gut and the environment,
 d = the total number of individuals of all groups in the diet,
 e = the total number of individuals of all groups in the environment, and
 n = the total number of individuals of all groups in the diet and environment.

Then

$$C = \pm \left(\frac{d}{n} \right)^{1/2}$$

The value of C ranges from -1 to +1, with a negative value indicating negative selection, 0 = random feeding, and a positive value indicating positive selection. The statistical significance of a C value calculated for any prey taxon can be tested by means of 2 x 2 contingency table analysis (*i.e.* the frequency distributions of a given prey taxon *versus* all other prey are contrasted in the diet and the environment (Pearre, 1982)).

For the yellowfin experiment a modified C index was calculated for the three major prey taxa (copepod nauplii, juvenile and adult copepods and rotifers), taking into account: (1) the relative swimming speeds of the predators (yellowfin larvae) and prey (zooplankton), and (2) the effect of turbulent mixing introduced into the tanks by gentle aeration. Both of these factors influence the relative probability of encounter between predators and planktonic prey, and when incorporated into the calculation of an encounter-weighted selection index, they provide a more realistic measurement of prey preference than one based on relative densities of prey alone. The modified C index was calculated by encounter-weighting the numbers of prey found in the environment (*i.e.* changing a_e , b_e and e in the C index formula). The probability of encounter was determined by combining the encounter-weighting procedures for plankton developed by Buskey *et al.* (1993) and Rothschild and Osborn (1988). This approach involves the addition of terms for relative swimming speeds of predators and prey and turbulence effects to the original predator-prey encounter model of Gerritsen and Strickler (1977). The modified model is expressed as:

$$Z_{pi} = \pi R^2 N (u^2 + 3v^2 + 4w^2) / 3(v^2 + w^2)^{1/2}$$

where

- Z_{pi} = encounter rate of predator and prey i (encounters sec^{-1}),
 R = reactive distance of a 3.5 mm NL yellowfin larva (3 mm) (Table 2),
 N = density of prey i (1000 individuals L^{-1}),
 u = swimming speed of prey i (taxon-specific) (mm sec^{-1}),
 v = swimming speed of predator (a 3.5-mm NL yellowfin larva) (7 mm sec^{-1}) (Table 2), and
 w = the root-mean-square turbulent water velocity (1.8 mm sec^{-1}).

The values for u were not measured directly, but were taken from experimental data in the literature on swimming speeds of zooplankton that were similar to those used in our experiment. A modal value of 2.0 mm sec^{-1} was used as an estimate of sustained swimming speeds of juvenile and adult copepods (Hardy and Bainbridge, 1954; Shuvayev, 1978). A value of 0.5 mm sec^{-1} was used for the swimming speed of rotifers, and a swimming speed of 0.2 mm sec^{-1} was used for copepod nauplii (Buskey *et al.*, 1993). The values for R and v were estimated during this study by observing yellowfin larvae swimming in aquaria (Table 2). A density of 1000 individuals L^{-1} was chosen as a standard density of prey (N). The value for w was estimated from the relationship:

$$w^2 = 3.6 (r)^{2/3} \text{ (Muelbert } et al., 1994)$$

where

- w = the root-mean-square turbulent water velocity (cm sec⁻¹).
- ϵ = the turbulent kinetic energy dissipation rate (10⁻⁷ Watts (W) m⁻³), and
- r = a decorrelation distance, the distance at which fluctuations in w become uncorrelated (10⁻² m)

The value for w is only an approximation due to the uncertainty in measuring ϵ in the experimental tanks. The estimation of ϵ from field data on turbulent dissipation rates measured in oceanic systems was provided by MacKenzie and Leggett (1993) and Muelbert *et al.* (1994). It was assumed that the dissipation rate in our experimental tanks was equal to the lowest detectable turbulent dissipation rates (~ 10⁻⁷ W m⁻³) reported for oceanic mixed layer habitats. The value for r was taken from Muelbert *et al.* (1994).

By incorporating swimming-speed and turbulence terms into the model of Gerritsen and Strickler (1977), an estimated encounter rate (Z_{pi}) was calculated for each major prey taxon. This encounter rate was then divided by the encounter rate calculated for a stationary prey item (Z_0), resulting in a relative encounter ratio (Z_{pi}/Z_0) for each prey taxon. Each taxon-specific encounter ratio was multiplied by the number of individuals of that prey taxon in the tanks to produce an encounter-weighted prey abundance. The modified prey abundances were used in the calculation of the encounter-weighted C index.

A pooled C index (encounter-weighted) was estimated for each major prey taxon for each day of the experiment. Pooling of the prey frequency distributions was performed after analysis of heterogeneity of the 2 x 2 contingency tables between replicate tanks (Zar, 1984).

RESULTS

Size composition of eggs and larvae

The mean diameter of fertilized yellowfin eggs collected in the sea pens and preserved in formalin was 1.0 mm ± 0.00 standard deviation (SD). At hatching, preserved larvae averaged 2.51 mm NL ± 0.10 SD. The mean length of larvae (formalin-preserved) at first-feeding was 3.45 mm NL ± 0.07 SD. Mean length decreased to 3.40 mm NL on Day 2 of feeding, increased to 3.44 mm on Day 3, and averaged 3.65 mm on Day 4 (Figure 4). Mean daily growth rate in length was 0.05 mm day⁻¹.

Prey assemblages

Zooplankton available as prey to the yellowfin larvae consisted of 19 taxa (Table 1). The coefficient of variation for zooplankton counts generally ranged from 4 to 8 percent per taxon per day. Prey populations were numerically dominated by copepod nauplii (44 to 54 percent of the total prey per day), rotifers (31 to 40 percent), a variety of juvenile and adult copepods (3.1 to 6.6 percent), and invertebrate eggs (1.6 to 6.8 percent). All other taxa combined comprised 3.4 to 8.5 percent of the prey each day. The juvenile and adult copepod component was numerically dominated by cyclopoids (constituting 1.8 to 3.8 percent of the forage organisms daily), followed by calanoids (1.0 to 2.4 percent) and harpacticoids (0.3 to 0.7 percent).

Swimming and feeding behavior of larvae

The cruise swimming speed of first-feeding yellowfin larvae was estimated as approximately two body lengths per second (~ 7 mm sec⁻¹) (Table 2). The mean reactive distance of first-feeding larvae was approximately 3 mm (Table 2), and the duration of individual feeding attacks was 1 to 2 seconds.

Feeding behavior was characterized by constant swimming while searching for prey, interrupted by brief hovering during inspection of prey, followed by sinuous flexion of the body with the tail held in a high-amplitude position, and then attack. Sometimes attacks were not completed after initial flexion of the body. In the case of an unsuccessful attack, larvae exhibited the ability to reverse direction and initiate another attack on the same prey item.

Diet composition

Diet analysis was performed on 199 larvae. Feeding incidence was high, averaging 94.9 percent on Day 1, 100 percent on Day 2, 100 percent on Day 3, and 96.9 percent on Day 4 (Table 3). Yellowfin larvae consumed 10 of the 19 types of prey presented over the first four days of feeding, but the diet was numerically dominated by copepod nauplii and juvenile and adult copepods (Table 3). Copepod nauplii constituted from 91.2 to 96.1 percent of all prey consumed each day. Over the 4-day study period, juvenile and adult copepods increased in numerical abundance in the diet from 1.4 percent (Day 1) to 7.5 percent (Day 4). All copepods that were identifiable in larval guts were cyclopid copepods. Rotifers, although comprising 31 to 40 percent of the available forage, were consumed in low numbers (0.4 to 2.1 percent of the total number of prey consumed per day). Other prey, which included invertebrate eggs, tintinnids, and phytoplankton, were also consumed in low numbers (< 2.0 percent by number per day). Copepod nauplii were eaten by 97 to 100 percent of all feeding larvae each day. The frequency of occurrence of juvenile and adult copepods in larval guts increased from 31.4 percent on Day 1 to 68.3 percent on Day 4. Rotifers were eaten by 3.2 to 28.6 percent of all feeding larvae each day.

Copepod nauplii dominated prey biomass, constituting 80.0 to 90.4 percent of the biomass of gut contents each day. Biomass of juvenile and adult copepods in the guts increased by a factor of 4 (5.0 to 18.8 percent) over the 4-day study period. Rotifers constituted 0.8 to 2.5 percent of the biomass consumed daily. All other prey comprised 2.1 percent of the biomass consumed each day.

The mean digestion states of nauplii, copepods, rotifers, and all other prey were not significantly different (Kruskal-Wallis Test, $P > 0.1$). The daily mean digestion state of all prey combined ranged from 2.5 to 2.8 (Figure 5). The mean daily gut fullness (including larvae with empty guts) ranged from 3.6 to 3.9, indicating that the average larval gut was between 50- and 100-percent full (Figure 5).

Numbers of prey

The number of prey consumed per larva ranged from 0 to 48 on Day 1, 1 to 30 on Day 2, 3 to 31 on Day 3, and 0 to 30 on Day 4 (Figure 6). The mean number of prey consumed per larva was: Day 1 - 20.3; Day 2 - 13.9; Day 3 - 14.9; Day 4 - 13.8. By Day 4, although larvae were larger, they were consuming, on average, fewer prey.

Relationship between prey size and larval mouth width

The body width of prey consumed by the larvae ranged from 30 to 150 μm on Day 1, 30 to 165 μm on Day 2, 30 to 140 μm on Day 3, and 36 to 188 μm on Day 4 (Figure 7). The mean width of prey increased as follows: Day 1 - 57.9 μm ; Day 2 - 60.5 μm ; Day 3 - 63.5 μm ; Day 4 - 67.8 μm . The slight increase in mean size of prey over time was due to the consumption of slightly larger nauplii, copepods, and rotifers (Figure 8), and to the addition of greater numbers of juvenile and adult copepods in the diet (Table 3).

Mouth width of larvae increased rapidly from a mean value of 265 μm on Day 1 to 365 μm on Day 4 (Figure 9). Mouth width increased more rapidly than did body length, with the ratio of mean mouth width to mean notochord length increasing from 0.077 percent on Day 1 to 0.096 percent on Day 4. On average, the larvae consumed prey that were considerably smaller than the mouth could accommodate (Figure 9). The mean width of prey selected each day was only 20 to 22 percent of the mean mouth

width of larvae, although individual larvae consumed prey as wide as 59 percent of larval mouth width. Over the first 4 days of feeding, prey size did not vary significantly with larval mouth width (Figure 10). The slope of a linear regression of prey width on larval mouth width did not differ significantly from zero ($P > 0.3$, $n = 2,410$).

Prey selection

The larvae exhibited strong patterns of prey selection (Table 4). On all days, there was strong selection for copepod nauplii, with encounter-weighted C values ranging between + 0.42 and + 0.51. Larvae selected against rotifers on all dates (C values ranging from - 0.43 to - 0.52). Juvenile and adult copepods were consumed in proportions nearly equal to their abundances, although on Days 2 and 4 larvae exhibited slight positive selection for copepods. Positive selection for cyclopoid copepods and negative selection for calanoid and harpactacoid copepods can be inferred, since cyclopoids were the only copepods identified in larval guts, and made up the vast majority of copepod prey biomass. Other prey were too rare in the diet to properly assess selection.

The inclusion of the effects of swimming speed and turbulence in the assessment of prey selection improved the analysis by transforming selectivity into terms of individual encounters. The encounter-weighted prey selectivity relationships were dominated by the relative swimming speeds of the larvae and their prey. Turbulence effects on encounter rates were moderate, given the low level of aeration in the feeding tanks. A sensitivity analysis was performed to examine the potential effects of higher turbulent dissipation rates on encounter rates (Table 5). For example, if the turbulent dissipation rate in the tanks had been increased from 10^{-7} to 10^{-5} $W m^{-3}$ (an increase within normal limits of oceanic turbulence levels), the absolute encounter rates between a larva and the prey would have increased by between 78 and 82 percent (Table 5).

Prey energetics

Estimated prey biomass and energy content per larval gut showed net increases from Day 1 to Day 4 of 11 percent and 9 percent, respectively (Figure 11 A,C). On average, there was a slight decrease in the biomass and energy consumed on Day 2, although values for individual larvae were more variable on Day 2 than the other days. Although larval weights were not routinely measured, analysis of the weights of a few individuals indicated a modest weight gain of 6 to 8 percent (dry weight) per larva over the 4 days. Thus, the weight-specific biomass and energy content per larval gut would show much the same pattern as that depicted in Figure 11.

The biomass and energy content of individual prey increased non-linearly over the 4 days of feeding (Figure 11 B, D). Dry weight per prey item showed a total increase of approximately 66 percent while the energy content per prey item increased about 64 percent. The increase resulted from the consumption of greater numbers of juvenile and adult copepods and the selection of slightly larger prey over time.

DISCUSSION

Prey selection

In the laboratory, yellowfin larvae were selective predators from the onset of feeding. During the first four days of feeding, they exhibited strong selection for copepod nauplii, and nauplii dominated the diet numerically and by weight. Most nauplii used in the study ranged in width from 40 to 100 μm , with the majority of individuals ranging from 50 to 80 μm . Juvenile and adult copepods increased in relative importance in the diet quickly, and by the second day of feeding, yellowfin exhibited some positive selection for cyclopoid copepods (mostly copepodites). Although juvenile and adult copepods are generally more difficult for planktivores to capture (Shuvayev, 1978), nearly one-third of the yellowfin had

eaten copepods on the first day of feeding, and this percentage increased to nearly 70 percent by Day 4. Larvae strongly selected against rotifers during the first-feeding stage. The selection against rotifers is in contrast to the results of other IATTC-JASFA feeding trials with yellowfin, in which larvae readily consumed rotifers when they were the only prey type offered.

First-feeding yellowfin selected prey that ranged between 35 and 188 μm in width, and the mean width of prey eaten each day ranged from 60 to 70 μm . The size range of prey selected was undoubtedly influenced by the restricted size range (43 to 261 μm) and faunal composition of prey offered to larvae. Most marine fish larvae, even those with relatively large mouths, begin feeding on foods ranging from 50 to 100 μm in width (Houde, 1973; Hunter, 1981). Yellowfin larvae possess relatively large mouths in relation to their body size, yet in this study they consistently selected prey that were considerably smaller than would be predicted based on larval mouth size alone. Although mouth width tends to establish the upper size limit for selection of prey by larval fishes, many marine fish larvae commence feeding on surprisingly small prey, and smaller prey often comprise a large proportion of the diet for extended periods (Arthur, 1976; Hunter, 1981; Govoni *et al.*, 1986). This pattern of feeding often reflects the higher relative abundance of many types of small microzooplankton prey that are of appropriate size for first-feeding larvae (Hunter, 1981).

Our laboratory results on feeding habits are consistent with the results of the few field studies of food habits of yellowfin larvae. Uotani *et al.* (1981) reported that in waters northwest of Australia, yellowfin larvae fed predominantly on copepods, copepod nauplii, cladocerans, and appendicularians. The larvae examined ranged in length from 2.6 to 11.6 mm standard length (SL), but no breakdown of the diet by larval size categories (particularly small sizes) was provided. Prey selection patterns were similar to our laboratory results, with yellowfin exhibiting positive selection for copepod nauplii and cyclopoid copepods (*Corycaeus* spp.). The results of Uotani *et al.* also indicated positive selection for cladocerans and appendicularians, two prey groups that were scarce in our laboratory prey populations. Hornick (1989) reported that in the Straits of Florida small larvae of yellowfin (< 5.0 mm NL) ate copepod nauplii and small numbers of invertebrate eggs. The mean width of prey selected by small larvae was about 70 μm , which is similar to our results from the laboratory. In the Straits of Florida, larger larvae (> 5.0 mm NL) also ate copepod nauplii, but added copepods, cladocerans, appendicularians, and fish larvae to their diet (Hornick, 1989).

Swimming and feeding behavior

Yellowfin larvae appear to be relatively active feeders. Our estimates of sustained swimming speeds of first-feeding larvae were approximately two body lengths per second ($\sim 7 \text{ mm sec}^{-1}$). Most marine fish larvae exhibit sustained swimming speeds on the order of 0.5 to 2.0 body lengths per second at first feeding (Hunter, 1981). After an unsuccessful feeding attack, yellowfin larvae were able to reverse direction and initiate another attack on the same prey item. This mode of feeding was also observed in Pacific mackerel, *Scomber japonicus*, larvae (Hunter and Kimbrell, 1980) and older black skipjack tuna, *Euthynnus lineatus* larvae (Margulies, 1993), and may be characteristic of the larvae of other scombrids. Yellowfin feeding success was also relatively high (> 95% to 100%) at first-feeding compared to many other marine fish larvae (Hunter, 1981). The physiological structure of the visual system of scombrid larvae studied to date appears to be advanced and consistent among several scombrid genera (Margulies, 1997). Since fish larvae are visual feeders, the high initial feeding success of yellowfin larvae may be related to an advanced visual system coupled with flexibility in maneuvering during feeding. Conversely, yellowfin larvae appear to be more active than many marine fish larvae. This high activity level, coupled with the high temperatures at which yellowfin larvae occur, must place high metabolic demands on larvae and indicates a short-duration window of opportunity for initiating successful feeding.

The prey selection patterns exhibited by yellowfin larvae are based on biological attributes of the larvae and their zooplankton prey. Prey size is often the dominant factor in prey selection by larval fish (Hunter, 1981). The peak in biomass for copepod nauplii in our experiment occurred at naupliar widths of 50 to 80 μm , which may coincide with a prey width that is preferred by first-feeding yellowfin larvae. Rotifers tended to be slightly larger and may have been selected against based on size. Prey selection can also be influenced by prey morphology, color, and behavior (Govoni *et al.*, 1986). Copepod nauplii swim in a paddling, zig-zag motion (Shuvayev, 1978) which may be more detectable to yellowfin larvae as they search for prey. In contrast, although rotifers exhibit almost no escape abilities, they swim in a slow, smooth trajectory that may not be as apparent to yellowfin as they search for prey. Cyclopoid copepods, which swim in a hop-and-sink fashion and at moderately slow speeds (Hardy and Bainbridge, 1954; Shuvayev, 1978), were the only juvenile and adult copepods identified in the guts of yellowfin in our experiments. Calanoid copepods tend to be active, fast swimmers (Gauld, 1966; Shuvayev, 1978), and their absence in the diet of first-feeding yellowfin may reflect the inability of small larvae to catch these faster prey. It appears that yellowfin larvae may require some period of time to increase capture success on larger, more evasive prey such as juvenile and adult copepods.

Potential effects of microturbulence on feeding

In our analysis of yellowfin prey selectivity, consideration of the effects of swimming speeds and turbulence provided a more realistic view of larval feeding than that predicted by considering relative densities of organisms alone. The addition of swimming speed and turbulence components transformed the analysis of encounter rates to an individual encounter basis. Turbulence levels estimated in our experimental tanks ($\epsilon = 10^{-7}$ Watts m^{-3}) were low and produced only moderate influences on encounter rates as measured by the model of Gerritsen and Strickler (1977). At low turbulence rates, the encounter-weighted relationship between yellowfin larvae and their prey was dominated by the relative swimming speeds of predators and prey. The relatively high swimming speed of the yellowfin larvae in relation to their prey was particularly important in the relationship. Weighting the predator-prey model resulted in net increases in encounter rates ranging from + 0.5 percent for rotifers to + 6.0 percent for copepods. Most importantly, our sensitivity analysis pointed out the strong potential effects that increased turbulence levels would have on encounter rates. For example, by increasing the turbulent dissipation rate in our tanks from 10^{-7} to 10^{-5} Watts m^{-3} (equivalent to increased turbulence caused by a 4- to 5-fold increase in sustained wind speed at the surface of the ocean; Rothschild and Osborn 1988), the encounter rates of first-feeding yellowfin larvae and prey would have doubled. This increase would be significant biologically because the larvae would be relying on turbulent rather than metabolic energy to increase encounter rates with prey. The turbulence effect would also be most pronounced on smaller, less-motile larvae (*e.g.* first-feeding yellowfin).

Several caveats to our model of potential turbulence effects should be mentioned. The Gerritsen and Strickler model that we utilized assumes that yellowfin larvae search for prey in a cruise mode (*i.e.* they swim constantly while searching) and that they perceive prey within a spherical volume of water. Although more detailed analysis of search behavior is required, our observations in this study indicate that yellowfin larvae may search for prey using a "pause-travel" method (*i.e.* larvae do not swim constantly but pause intermittently to search for prey; Browman and O'Brien, 1992). The perceptive field of yellowfin larvae is not known, although recent studies indicate that the perceptive field of some fish larvae may approximate a half-sphere or forward-directed pie wedge (Browman and O'Brien, 1992) rather than a sphere. These uncertainties in yellowfin search mode and perceptive field could bias our model towards an overestimation of *absolute* encounter rates. However, the use of the Gerritsen and Strickler model does not alter the analysis of the *relative* potential effects of turbulence and swimming speeds on encounter rate. In fact, MacKenzie and Kiorboe (1995) have shown, using a modification of

the Gerritsen and Strickler model, that in *relative* terms the encounter rate for a “pause-travel” species rises more steeply with turbulence compared to that of a cruise-searching species. Although there remain uncertainties in our yellowfin model parameters, we feel that our encounter analysis is a good working model for assessing the potential effects of turbulence and swimming speeds on the feeding success of yellowfin larvae.

Small-scale turbulence has been invoked as a potentially important driving mechanism in the feeding dynamics of larval fishes. Turbulent mixing in larval fish habitats is usually introduced via winds (Rothschild and Osborn, 1988), tidal mixing (Muelbert *et al.*, 1994), upwelling (MacKenzie and Leggett, 1993), and at boundary fronts (MacKenzie and Leggett, 1991). Theoretical simulations have been utilized to predict that increased turbulence will increase encounter rates between larval fishes and their prey (Rothschild and Osborn, 1988), and some recent field studies support this theory (Sundby and Fossum, 1990; Muelbert *et al.*, 1994). However, turbulence appears to be beneficial only up to an intermediate level, above which larval ingestion rates actually decrease (due to reduced larval pursuit success) (MacKenzie *et al.*, 1994) or disaggregation of prey patches occurs (Haury *et al.*, 1990). Given the low induced turbulence levels in our experiments, it is likely that increasing turbulence would enhance feeding conditions for yellowfin larvae up to an optimum turbulence level which is not yet determined. Yellowfin larvae in the Pacific Ocean occur almost exclusively in mixed-layer habitats, often in the uppermost 20 m of the water column (Richards and Simmons, 1971; Boehlert and Mundy, 1994). Physically-induced changes in plankton contact rates tend to be highest in surface waters and decrease with depth (MacKenzie *et al.*, 1994). Previous analysis of the relationship between numbers of yellowfin recruits in the EPO and wind mixing in part of the spawning area indicated a weak positive correlation that was not statistically significant (Anonymous, 1988: pg. 28). Conversely, Forsbergh (1989) found a significant negative correlation between the catch rate of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) recruits in the EPO and an index of wind mixing on spawning grounds between 135° and 180°W in the Pacific. His analysis was based on the assumption that the majority of skipjack spawning occurred west of 135°W. Given the epipelagic distribution of yellowfin larvae, and considering the results of our analysis of turbulence effects on feeding in the laboratory, there appears to be strong potential for the influence of microscale turbulence on the feeding success of yellowfin larvae.

Prey energetics

Our laboratory data indicated that yellowfin larvae fed selectively and increased their energy intake per prey item over time at the high prey densities offered in our experiments. During the first four days of feeding, the increase in energy consumed per larva was about 10 percent, and the increase in the energy content of each prey item consumed was about 64 percent. This increase was directly attributable to the selection of greater numbers of juvenile and adult copepods. Copepodite and adult stages of copepods contain 2 to 10 times the caloric value of copepod nauplii, rotifers, and most other invertebrate nauplii (Theilacker and Dorsey, 1980; Chisholm and Roff, 1990). The feeding pattern of yellowfin consisted of sustained positive selection for copepod nauplii combined with a fairly rapid addition to the diet of slightly larger, rarer juvenile and adult copepods. This mode of feeding, where the minimum size of prey changes slowly as the larvae grow and relatively large and rare prey items (including other fish larvae) are added quickly to the diet, seems to be characteristic of scombrid larvae (Hunter and Kimbrell, 1980; Jenkins *et al.*, 1984; Young and Davis, 1990; Margulies, 1993; Wexler, 1993). Although we examined only the first four days of feeding in our experiments, yellowfin larvae had begun to exhibit this pattern of feeding at high prey concentrations. The rapid increase in mouth size of yellowfin larvae allows for this type of feeding by minimizing any limitations on feeding due to large prey. The feeding pattern exhibited by yellowfin larvae may be adaptive for development in warm seas such as regions of the tropical and subtropical Pacific that are characterized by variable secondary production levels.

Rearing diets

Our experiments indicate that a wild plankton diet consisting of copepod nauplii and/or juvenile copepods may be the best initial food for culture of yellowfin larvae. Copepod nauplii seem to fit a preferred prey size at first-feeding and may provide the best nutrition in terms of fatty acids, amino acids, and enzyme profiles (Watanabe *et al.*, 1983; Naess *et al.*, 1995). Cyclopoid copepods are selected by first-feeding larvae over other copepod taxa; this may reflect active preference by the larvae or that cyclopoids are easier to catch. Cyclopoids that may be good candidates for use in mass culture of yellowfin include *Oithona* spp. or *Corycaeus* spp. Rotifers are eaten by yellowfin larvae when they are offered alone in the diet, and rotifers have been used routinely as initial food for larval tunas in Japan (JASFA, unpublished data; Kaji *et al.*, 1999). However, yellowfin larvae strongly avoid rotifers if they are provided in a mixed diet with copepods; rotifers seem to be rejected at the first-feeding stage based on their perceived size (larger than copepod nauplii) and/or locomotion patterns. The rotifers used in our experiment were enriched with an emulsified squid oil. Recent studies indicate that emulsified enrichment oils do not provide the same level of essential fatty acids for fish larvae compared to enrichment media that contain high levels of the unsaturated fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) (Barclay and Zeller, 1996). As initial food for yellowfin larvae, we would recommend that rotifers be mixed with copepods or that rotifers be enriched with a medium that is high in DHA fatty acid content.

Yellowfin early life history

Yellowfin larvae occur throughout the tropical Pacific during all months of the year, and in most of the subtropical Pacific during extended seasons (Suzuki *et al.*, 1978; Nishikawa *et al.*, 1985). Some localized regions with high yellowfin larval abundances have been indicated in the Pacific in the vicinity of islands and seamounts (Leis *et al.*, 1991; Boehlert and Mundy, 1994), oceanic equatorial upwelling zones (Suzuki *et al.*, 1978) and coastal upwelling regions (Klawe, 1963). However, it has yet to be demonstrated that greater abundances of yellowfin larvae in these habitats are related to conditions that are more favorable for larval nutrition, growth, or survival. Most of these regions are typified by moderate or seasonally-high primary and secondary production levels (Blackburn *et al.*, 1970; Sameoto, 1986), yet no clear links between higher productivity and increased survival of yellowfin larvae have been established. This is due in large part to uncertainty over the temporal and spatial patterns of yellowfin spawning and the lack of information on the patch dynamics of yellowfin eggs and larvae. It is uncertain whether yellowfin recruitment patterns are regionally localized or are truly oceanic in scope. Studies to date in the vicinity of Pacific islands suggest that yellowfin larval distributions appear to be the product of environmental influences on adult spawning (Boehlert and Mundy, 1994). If yellowfin recruitment is driven by larval survival, early feeding success and its influence on survival and growth has strong potential for regulating numbers of recruits, at least on a coarse scale (Houde, 1987, 1989). Feeding success of yellowfin larvae can be measured *in situ* via starvation indices and growth rates or indirectly by measuring environmental proxies for food levels and larval feeding success (*e.g.* temperature, wind data, productivity measurements). Either of these approaches can be used to make comparisons with recruitment levels which may aid in refining recruitment analyses. We suggest that laboratory studies such as ours may be the best approach for initial examination of the feeding dynamics of yellowfin larvae and the formulation of hypotheses to be tested *in situ*.

The results of our laboratory feeding experiments indicate that yellowfin larvae are selective feeders, yet retain the ability to feed on a wide size range of prey, which is an adaptive attribute for development in oceanic waters that may vary considerably in feeding conditions. Yellowfin larvae are active while searching for prey, and initiate feeding under high metabolic constraints. As larvae grow, they are physically equipped to add relatively large, rare prey to the diet, and it may be these large prey that contribute the most to nutrition and growth. Our data indicate that feeding rates of first-

feeding yellowfin larvae can be strongly influenced by turbulence processes operating on a microscale level, which suggests that yellowfin larval feeding success is dependent on more than prey concentrations alone.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was made possible through the financial and technical support of the Overseas Fishery Cooperation Foundation (OFCF), the Federation of Japan Tuna Fisheries Co-operative Associations (Japan Tuna), and the Japan Sea Farming Association (JASFA). We are very appreciative of the support and encouragement of the following individuals: Akira Suda, Tsutomu Watanabe, and Eiko Ozaki of Japan Tuna; Akio Honma, Koji Imamura, Shigeru Matsunaga and Norihisa Ishibashi of JASFA; and Kenichi Unno and Tokuya Kikuchi of the OFCF. Kenji Oguri of Japan Tuna was an excellent guide and host to the first two authors during their stay in Japan. We appreciate the helpful reviews of the manuscript provided by Bill Bayliff, Rick Deriso, Greg Jenkins, Bob Olson, Kurt Schaefer and Jock Young. The paper was translated to Spanish by Nick Webb, and Guy Tapper and Christine Montez produced the figures. We also thank the past and present Directors of the IATTC, James Joseph and Robin Allen, and the Chief Scientist of the Tuna-Billfish Program, Rick Deriso, for their support of this project.

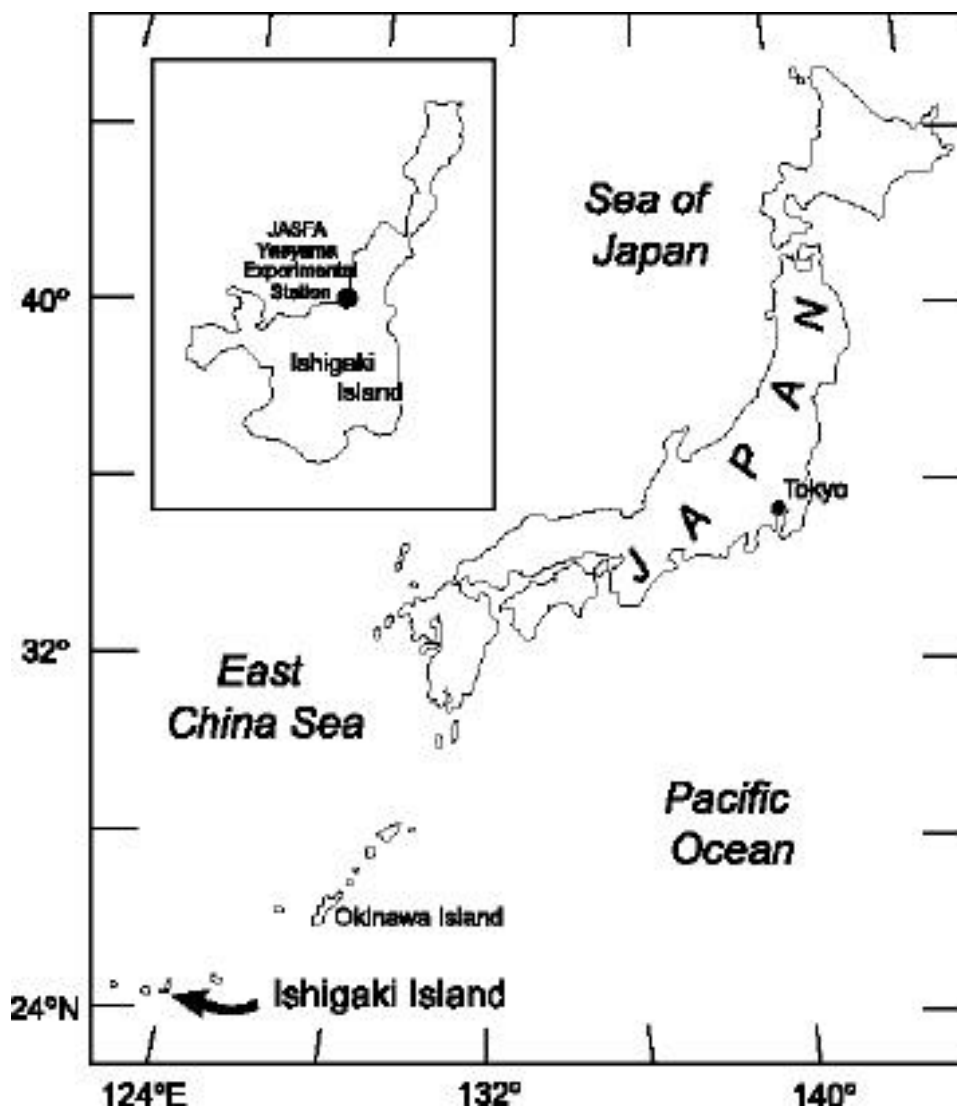


FIGURE 1. Location of Ishigaki Island and JASFA's Yaeyama Experimental Station.

FIGURA 1. Situación de la Isla Ishigaki y a Estación Experimental Yaeyama de la JASFA.

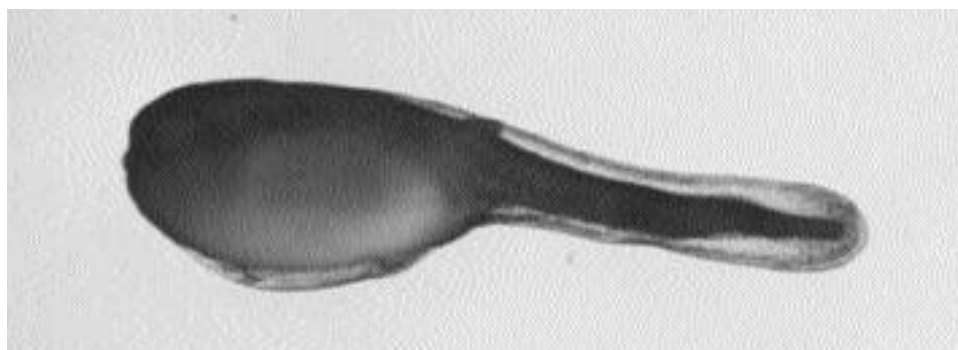
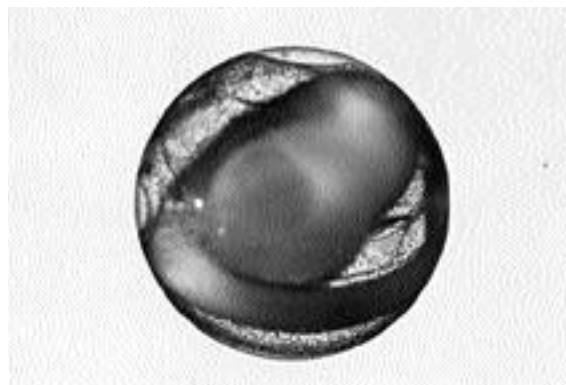


FIGURE 2. Representative stages of eggs and larvae of yellowfin tuna obtained from natural spawning of adults in sea pens: (upper panel) Fertilized egg (diameter 1.0 mm) at the tail-free embryo stage, just prior to hatching; (middle panel) Newly-hatched (2.5 mm NL) larva; (lower panel) First-feeding state larva (3.4 mm NL), with pigmented eyes and functional mouth, 2.5 days after hatching.

FIGURA 2. Etapas representativas de huevos y larvas de atún aleta amarilla obtenidos del desove natural de adultos en corrales marinos: (fotografía superior) Huevo fertilizado (diámetro 1,0 mm) en etapa de embrión sin cola, justo antes de eclosionar; (fotografía central) Larva recién eclosionada (2,5 mm NL); (fotografía inferior) Larva en etapa de primera alimentación (3,4 mm NL), con ojos pigmentados y boca funcional, 2,5 días después de eclosionar.

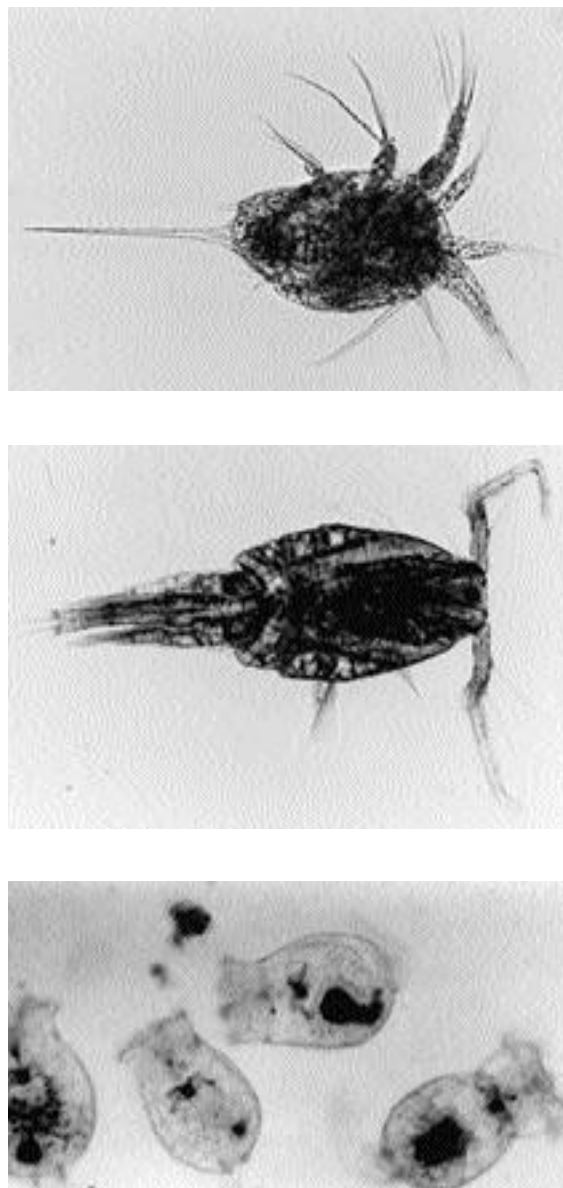


FIGURE 3. Representative microzooplankton used as prey in the feeding experiment:(upper panel) Copepod nauplius, greatest body width 0.07 mm; (middle panel) Copepodite stage (cephalothorax length 0.14 mm, body width 0.90 mm) of *Oithona simplex*, a cyclopoid copepod; (lower panel) Cultured rotifers (average length 0.20 mm, average width 0.14 mm), genus *Brachionus*.

FIGURA 3. Microzooplancton representativo usado de presa en el experimento de alimentación: (fotografía superior) nauplio de copépodo, ancho máximo del cuerpo 0,07 mm; (fotografía central) Etapa de copepodito (largo del cefalotorax 0,14 mm, ancho del cuerpo 0,90 mm) de *Oithona simplex*, un copépodo ciclopoide; (fotografía inferior) Rotíferos cultivados (largo medio 0,20 mm, ancho medio 0,14 mm), género *Brachionus*.

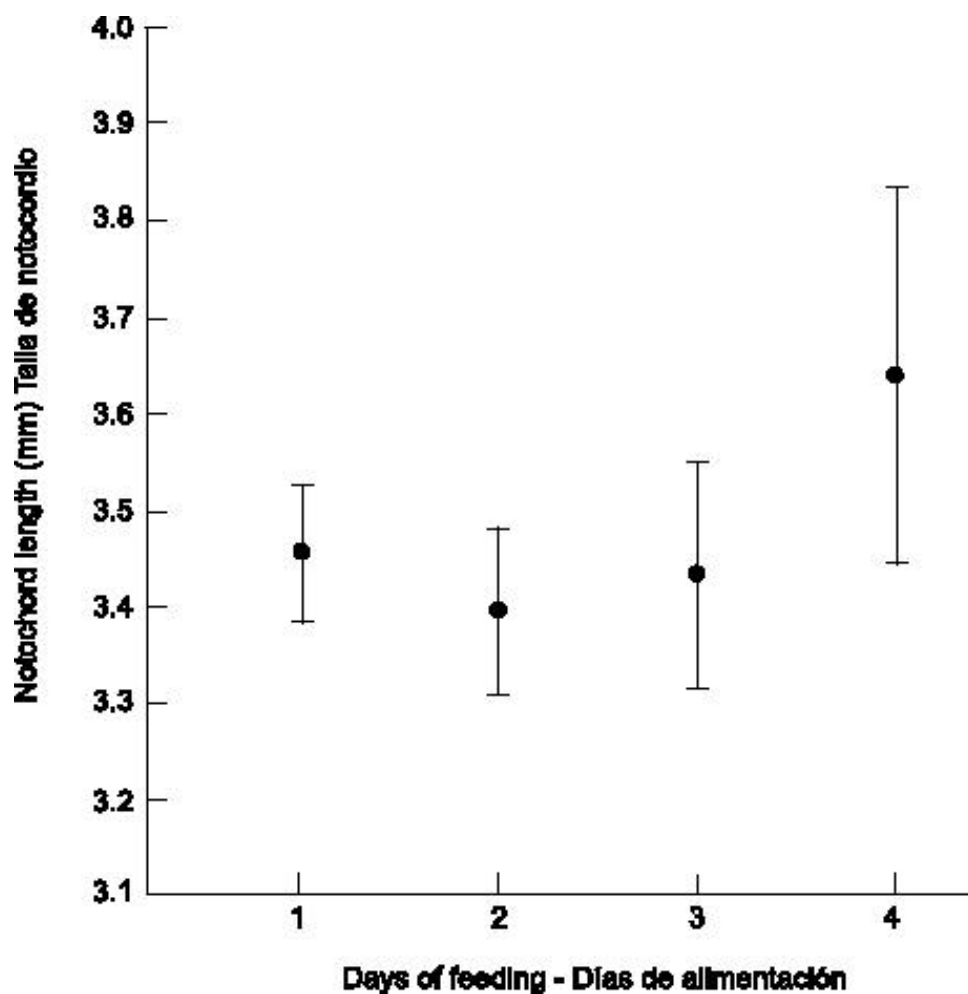


FIGURE 4. Notochord length of yellowfin larvae during the four-day feeding experiment. Plotted values are means \pm 1 SD.

FIGURA 4. Talla de notocordio de larvas de aleta amarilla durante los cuatros días del experimento de alimentación. Los valores graficados son promedios \pm 1 DE.

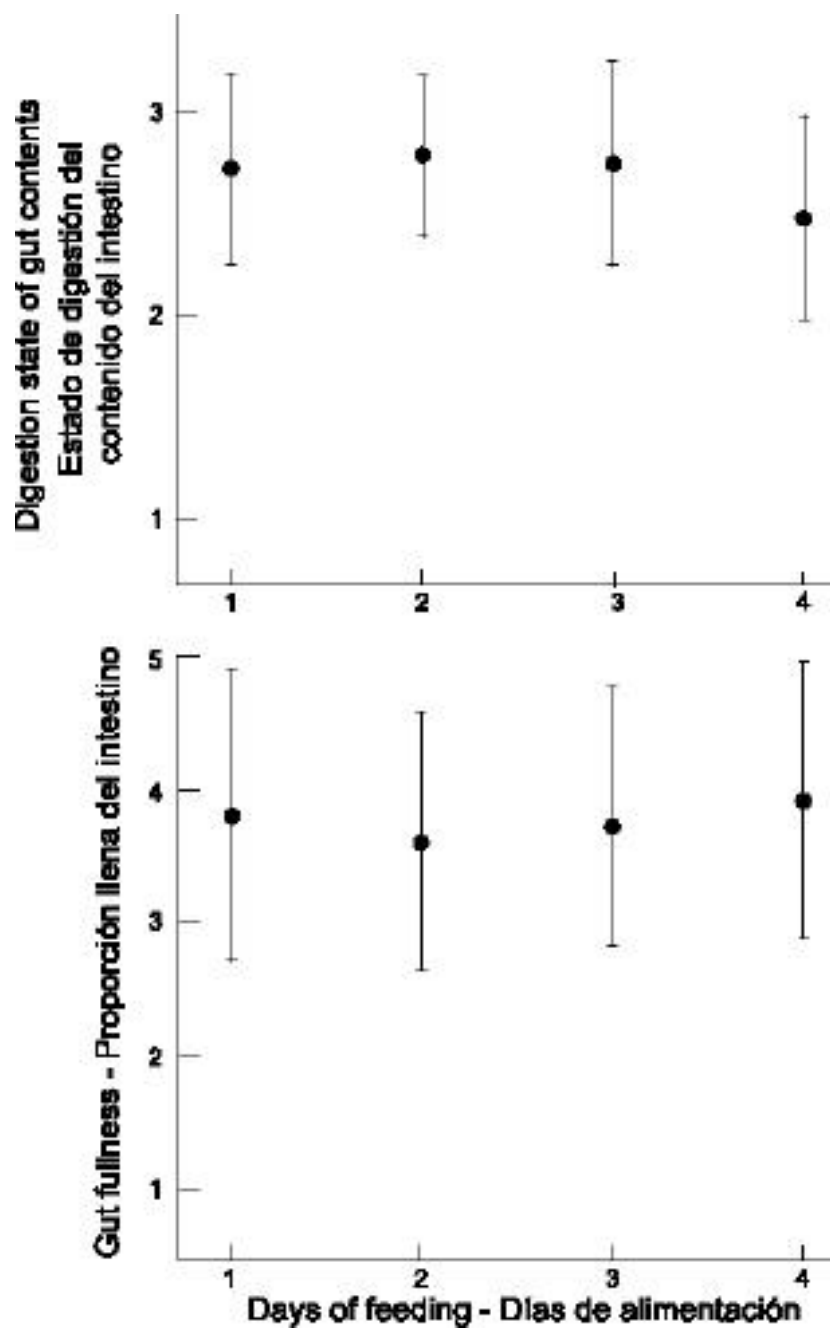


FIGURE 5. Digestion state of gut contents and gut fullness of yellowfin larvae during the first four days of feeding. Plotted values are means \pm 1 SD.

FIGURA 5. Estado de digestión del contenido del intestino y proporción llena del intestino de larvas de aleta amarilla durante los cuatros primeros días de alimentación. Los valores graficados son promedios \pm 1 DE.

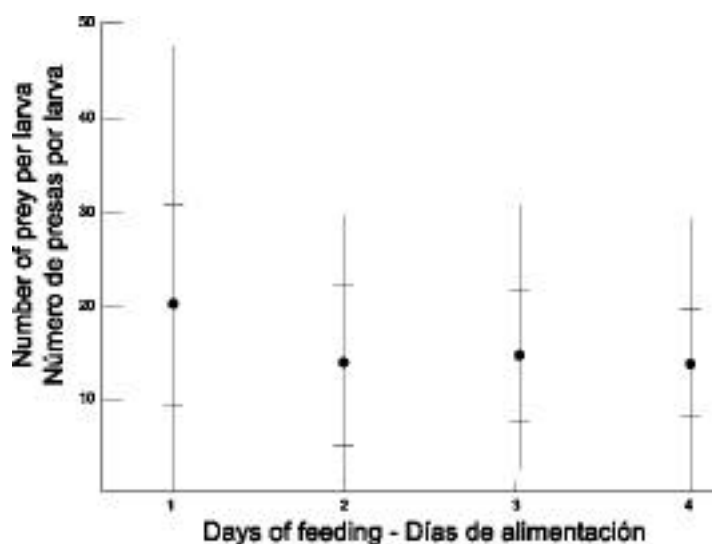


FIGURE 6. Relationship between number of prey consumed per yellowfin larva and day of feeding. Plotted values are means, vertical lines are ranges, horizontal lines represent ± 1 SD.

FIGURA 6. Relación entre el número de presas consumido por larva de aleta amarilla y día de alimentación. Los valores graficados son promedios, las líneas verticales rangos, y las líneas horizontales representan ± 1 DE.

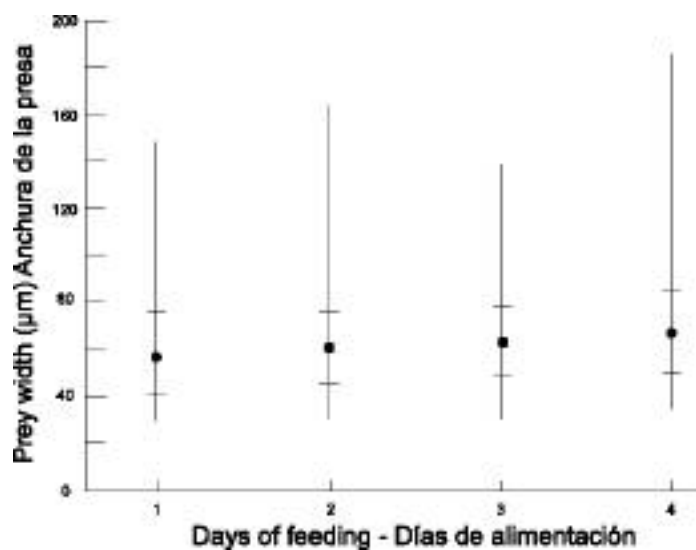


FIGURE 7. Relationship between width of prey eaten by yellowfin larvae and day of feeding. Plotted values are means, vertical lines are ranges, horizontal lines represent ± 1 SD.

FIGURA 7. Relación entre la anchura de las presas consumidas por las larvas de aleta amarilla y el día de alimentación. Los valores graficados son promedios, las líneas verticales rangos, y las líneas horizontales representan ± 1 DE.

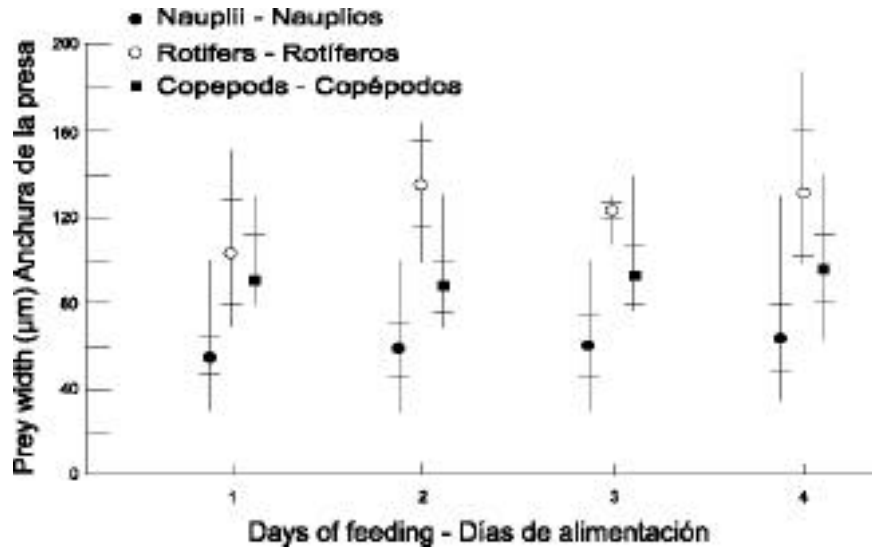


FIGURE 8. Widths of the numerically-dominant prey taxa consumed by yellowfin larvae during the first four days of feeding. Plotted values are means, vertical lines are ranges, horizontal lines represent ± 1 SD.

FIGURA 8. Anchura de los organismos en los grupos de presas predominantes en número consumidos por larvas de aleta amarilla durante los cuatro primeros días de alimentación. Los valores graficados son promedios, las líneas verticales rangos, y las líneas horizontales representan ± 1 DE.

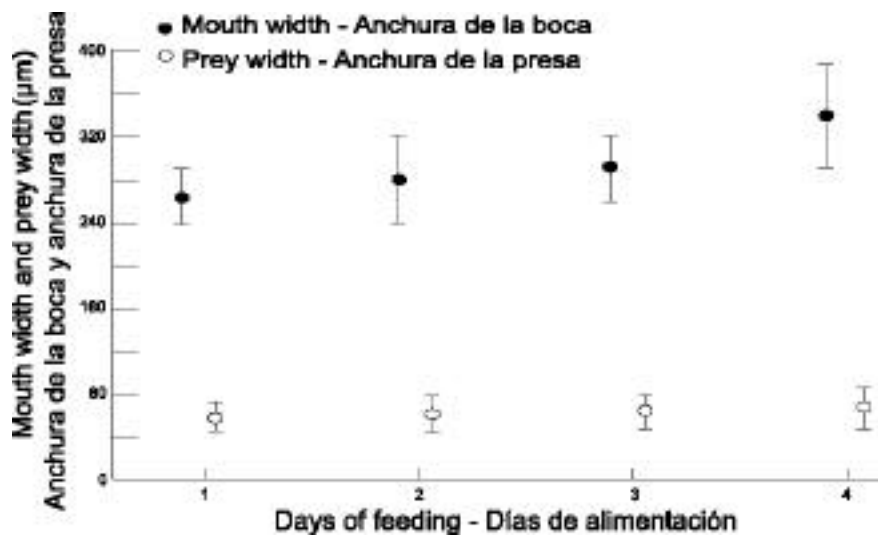


FIGURE 9. Mouth width of yellowfin larvae and width of prey consumed by larvae in relation to day of feeding. Plotted values are means ± 1 SD.

FIGURA 9. Anchura de la boca de larvas de aleta amarilla y anchura de las presas consumidas por las larvas en relación con el día de alimentación. Los valores graficados son promedios ± 1 DE.

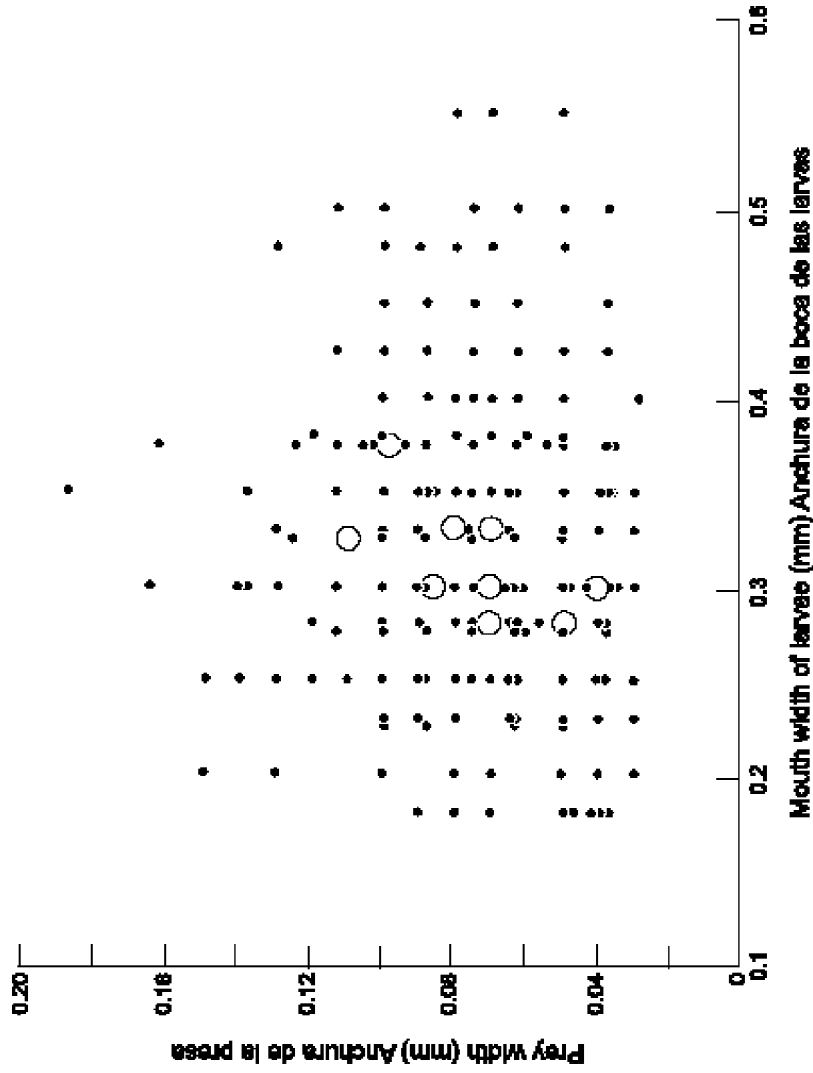


FIGURE 10. Relationship between mouth width of yellowfin larvae and prey width. Plotted values represent individual fish, and some points represent duplicate values. The large open circles denote > 10 duplicate values.

FIGURA 10. Relación entre la anchura de la boca de las larvas de aleta amarilla y la anchura de las presas. Los valores graficados representan peces individuales, y algunos puntos representan valores duplicados. Los círculos abiertos grandes significan > 10 valores duplicados.

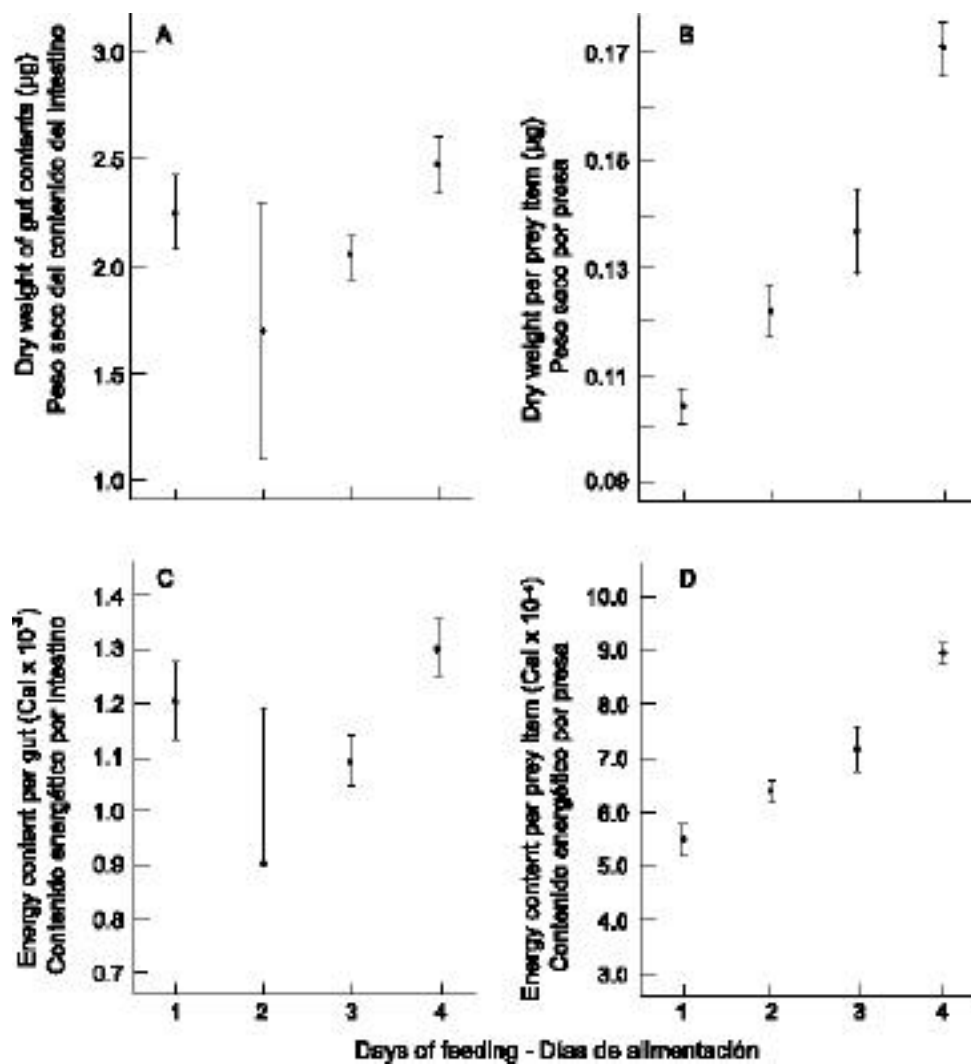


FIGURE 11. Biomass and energy content of prey in the guts of yellowfin larvae during the first four days of feeding: (A) Biomass of prey in each gut sample; (B) Biomass per prey item; (C) Energy content of prey in each gut sample; (D) Energy content per prey item. Plotted values are means \pm 1 SD.

FIGURA 11. Biomasa y contenido energético de las presas en el intestino de las larvas de aleta amarilla durante los cuatro primeros días de alimentación: (A) Biomasa de presas en cada muestra intestinal; (B) Biomasa por presa individual; (C) Contenido energético de las presas en cada muestra intestinal; (D) Contenido energético por presa individual. Los valores graficados son promedios \pm 1 DE.

TABLE 1. Summary of plankton offered as prey to yellowfin larvae.**TABLA 1.** Resumen del plancton ofrecido de presa a las larvas de aleta amarilla.

| | | |
|-----------------------|--------------------------|--|
| Diatoms | Diátomos | <i>Chaetoceros</i> spp. Unidentified diatom—Diátomos no identificados |
| Dinoflagellates | Dinoflagelados | <i>Peridinium</i> spp. |
| Tintinnids | Tintínidos | |
| Barnacle nauplii | Nauplios de percebe | |
| Rotifers | Rotíferos | <i>Brachionus plicatilis</i> |
| Copepod nauplii | Nauplios de copépodo | |
| Harpacticoid copepods | Copépodos harpactacoides | <i>Euterpina acutifrons</i> <i>Oculosetella</i> spp. |
| Cyclopoid copepods | Copépodos ciclopoideas | <i>Corycaeus</i> spp. <i>Oithona</i> spp. <i>Oncaea</i> spp. Unidentified cyclopoid— Ciclopoideas no identificados |
| Calanoid copepods | Copépodos calanoides | <i>Acartia</i> spp. <i>Paracalanus</i> spp. |
| Invertebrate eggs | Huevos de invertebrado | |
| Amphipods | Anfípodos | |
| Bivalve veligers | Velígeros bivalvos | |
| Appendicularians | Apendicularios | |

TABLE 2. Summary of swimming speeds and reactive distances of first-feeding yellowfin larvae observed in laboratory aquaria.**TABLA 2.** Resumen de la velocidad de natación y distancia de reacción de larvas de aleta amarilla en primera alimentación observadas en acuarios en el laboratorio.

| | Day - Día | |
|---|--------------|--------------|
| | 1 | 2 |
| Length of larvae (NL) - Talla de las larvas (NL) | | |
| N | 10 | 10 |
| Mean - Promedio (mm) | 3.46 | 3.48 |
| SD - DE | 0.08 | 0.10 |
| Range - Rango | 3.30 - 3.60 | 3.30 - 3.60 |
| Sustained swimming speed - Velocidad de natación sostenida | | |
| No. of observations - No. de observaciones | 58 | 49 |
| Mean - Promedio (mm sec-1) | 7.04 | 7.14 |
| SD - DE | 2.14 | 2.23 |
| Range - Rango | 4.10 - 10.30 | 4.30 - 11.90 |
| Reactive distance - Distancia de reacción | | |
| No. of observations - No. de observaciones | 47 | 36 |
| Mean (mm) | 3.09 | 3.03 |
| SD - DE | 0.88 | 0.79 |
| Range - Rango | 1.00 - 4.00 | 1.00 - 4.00 |

TABLE 3. Summary of prey items pooled for all yellowfin larvae in the feeding experiment. %N = percentage of the total number of prey items of a particular prey type eaten; %F = percentage frequency of occurrence of a particular prey type in the guts of larvae that contained food; NxF = product of %N and %F, an index of relative importance in the diet; %Wt = percentage of total prey biomass represented by a particular prey type.

TABLE 3. Resumen de las presas agrupadas para todas las larvas de aleta amarilla en el experimento de alimentación. %N = porcentaje del número total de presas de un tipo de presa particular consumido; %F = frecuencia porcentual de la ocurrencia de un tipo de presa particular en intestinos larvales que contenían alimento; NxF = producto de %N y %F, un índice de importancia relativa en la dieta; %Wt = porcentaje de la biomasa total de las presas representada por un tipo particular de presa.

| Prey type – Tipo de presa | Day - Día | | | | | | | | | | | |
|--|-----------|-------|--------|------|------|-------|--------|------|------|-------|--------|------|
| | 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | |
| | %N | %F | NxF | %Wt | %N | %F | NxF | %Wt | %N | %F | NxF | %Wt |
| Copepod nauplii – Nauplios de copepodo | 94.0 | 100.0 | 9400.0 | 90.4 | 94.5 | 100.0 | 9450.0 | 88.0 | 96.1 | 100.0 | 9610.0 | 90.4 |
| Copepods – Copépodos | 1.4 | 29.7 | 42.0 | 5.0 | 3.7 | 33.9 | 125.4 | 10.7 | 2.8 | 39.4 | 110.3 | 8.0 |
| <i>Corycaeus</i> spp | | | | | | | | | | | | |
| <i>Oithona</i> spp. | | | | | | | | | | | | |
| <i>Oncaea</i> spp. | | | | | | | | | | | | |
| Unid. cyclopoids – Ciclopoides no identificados | | | | | | | | | | | | |
| Unid. copepods – Copépodos no identificados | | | | | | | | | | | | |
| Rotifers – Rotíferos | 2.1 | 29.7 | 62.4 | 2.5 | 0.4 | 3.2 | 1.3 | 0.8 | 0.9 | 12.1 | 10.9 | 1.5 |
| Invertebrate eggs – Huevos de invertebrado | 0.3 | 5.4 | 1.6 | 0.1 | 0.6 | 3.2 | 1.9 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Tintinnids – Tintinidos | 0.3 | 2.7 | 0.8 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Unid. remains – Restos no identificados | 1.9 | 16.2 | 30.8 | 1.9 | 0.8 | 9.7 | 7.8 | 0.4 | 0.2 | 3.0 | 0.6 | 0.1 |
| Number of larvae with food in guts – Número de larvas con alimento en el intestino | 37 | | | | 62 | | | | 33 | | | 63 |
| Number of larvae with empty guts – Número de larvas con intestino vacío | 2 | | | | 0 | | | | 0 | | | 2 |

TABLE 4. Values of Pearre's *C* index (encounter-weighted) describing selection of major prey types by yellowfin larvae. A positive value indicates selection for, and a negative value indicates selection against a specific prey type. Results of chi-square analysis of significance of selection are indicated as follows: * = $P < 0.001$; NS = not significant.

TABLA 4. Valores del índice *C* de Pearre (ponderado por encuentro) caracterizando la selección de tipos principales de presas por larvas de aleta amarilla. Un valor positivo indica una selección a favor de, y un valor negativo una selección en contra de, un tipo de presa específico. Se indican los resultados del análisis de ji cuadrado del significado de la selección como sigue: * = $P < 0.001$; NS = not significant.

| Day of feeding Día de alimentación | Prey type—Tipo de presas | | |
|--|---|-----------------------|--|
| | Copepod nauplii Nauplios de copépodo | Rotifers Rotíferos | Juvenile and adult copepods Copépodos juveniles y adultos |
| 1 | +0.44(*) | -0.43(*) | -0.04(NS) |
| 2 | +0.47(*) | -0.52(*) | +0.01(NS) |
| 3 | +0.51(*) | -0.47(*) | -0.04(NS) |
| 4 | +0.42(*) | -0.52(*) | +0.01(NS) |

TABLE 5. Results of a sensitivity analysis of the potential changes in encounter rates among yellowfin larvae and zooplankton prey based on an increase in experimental turbulence levels.

TABLA 5. Resultados de un análisis de sensibilidad de los cambios potenciales en las tasas de encuentro entre larvas de aleta amarilla y presas zooplanctónicas con base en aumentos en el nivel de turbulencia experimental.

| Prey type—Tipo de presa | Turbulent dissipation rate Tasa de disipación por turbulencia | | Change Cambio (%) |
|--|--|---|-------------------------|
| | 10^{-7} W m^{-3} | 10^{-5} W m^{-3} | |
| | Encounter rate Tasa de encuentro (no h^{-1}) | Encounter rate Tasa de encuentro (no. h^{-1}) | |
| Copepod nauplii Nauplios de copépodo | 743 | 1,350 | +82 |
| Juvenile and adult copepods Copépodos juveniles y adultos | 774 | 1,374 | +78 |
| Rotifers Rotíferos | 750 | 1,358 | +81 |

SELECCION DE ALIMENTO POR LARVAS DE ATUN ALETA AMARILLA, *THUNNUS ALBACARES*, CRIADAS EN EL LABORATORIO

por

Daniel Margulies, Jeanne B. Wexler, Kevin T. Bentler¹, Jenny M. Suter, Shukei Masuma²,
Nobuhiro Tezuka², Kazuhisa Teruya³, Masakazu Oka⁴, Masaei Kanematsu⁵, y Hideki Nikaido⁶

RESUMEN

Durante octubre de 1992 se estudió en el laboratorio la selección de alimento por larvas de atún aleta amarilla en primera alimentación. Las larvas provinieron de huevos obtenidos del desove natural de aletas amarillas adultos mantenidos en corrales marinos adyacentes a la Isla Ishigaki, Prefectura de Okinawa (Japón). Se alimentó a las larvas con presas mixtas de zooplancton silvestre clasificado por tamaño y rotíferos cultivados.

Se descubrió que las larvas de aleta amarilla se alimentan de forma selectiva durante los cuatro primeros días de alimentación. Los nauplios de copépodo predominaron en la dieta en número, por frecuencia de ocurrencia y por peso. La importancia relativa de copépodos juveniles y adultos (principalmente ciclopoideos) en la dieta aumentó en el transcurso del periodo de 4 días. Los rotíferos, pese a que formaban del 31 al 40% del alimento disponible, respondieron de menos del 2,1% de la dieta en número. Se calcularon índices de selección de presas tomando en cuenta la abundancia relativa de las presas, la velocidad de natación de las larvas de aleta amarilla y de sus presas, y la influencia a microescala de la turbulencia sobre las tasas de encuentro. Los aletas amarillas seleccionaron a favor de nauplios de copépodo y en contra de los rotíferos, y consumieron copépodos juveniles y adultos en proporción a su abundancia.

Es posible que las larvas de aleta amarilla seleccionen nauplios de copépodo y ciclopoideos juveniles y adultos con base en el tamaño y movimiento de natación discontinuo de estas presas. Es posible que no se hayan seleccionado los rotíferos a raíz de su mayor tamaño o su patrón continuo de natación. Es posible que la mejor dieta inicial para el cultivo de larvas de aleta amarilla sea nauplios de copépodo y ciclopoideos juveniles y adultos, debido al tamaño, movimiento de natación, y contenido nutritivo de estas presas. Si se alimenta a las larvas de aleta amarilla con rotíferos solamente, se debería enriquecerlos con un suplemento nutritivo rico en ácidos grasos no saturados.

El tamaño de la boca de las larvas de aleta amarilla aumenta rápidamente en los primeros pocos días de alimentación, reduciendo la limitación de la alimentación debida al tamaño de la presa. Pese a que las larvas de aleta amarilla inician su alimentación con presas relativamente pequeñas, se hacen rápidamente capaces de añadir presas relativamente grandes y poco comunes a la dieta. Este modo de alimentación podría ser adaptivo para el desarrollo de larvas de aleta amarilla, que tienen tasa metabólicas altas y viven en hábitats cálidos en la capa de mezcla en el Pacífico tropical y subtropical. Nuestro análisis indica también que la influencia de turbulencia a microescala es potencialmente importante para el éxito de la alimentación de las larvas de aleta amarilla.

Palabras clave: ATUN ALETA AMARILLA, COPEPODO, LARVAS DE PEZ, ROTIFERO, SELECCION DE ALIMENTO, TAMAÑO DE BOCA, *THUNNUS ALBACARES*, TURBULENCIA

¹ Dirección actual: 1710 Enchantment Drive, Fort Collins CO 80525, EE.UU.

² JASFA, Amami Station, 955-5 Hyo Setonti, Oshima-gun, Kagoshima 894-2424, Japón

³ JASFA, Kamiura Station, Tuiura Kamiura, Minamikaifu-gun, Ooita 879-2602, Japón

⁴ OFCF, Sankaido Bldg. 9-13, Akasaka 1, Minato-ku, Tokyo 107-0052, Japón

⁵ JAFSA, Hakatajima Station, 2750 Kinoura Hakata, Ochi-gun, Ehime 794-2305, Japón

⁶ Hyogo Prefecture Sea-Farming Association, 22-1 Minamifutami Futami, Akashi, Hyogo 675-0163, Japón

INTRODUCCION

Las larvas de atún aleta amarilla ocurren en la mayoría de las zonas tropicales y subtropicales de los océanos del mundo (Nishikawa *et al.*, 1985), y viven en aguas de producción secundaria variable. En el Pacífico Océano, son ubicuas en latitudes tropicales durante la mayor parte del año, aunque su ocurrencia varía estacionalmente en regiones subtropicales (Richards y Simmons, 1971; Boehlert y Mundy, 1994). Un análisis histológico de la condición reproductora del aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental (OPO) indicó un patrón geográfico de desove similar para aletas amarillas adultos (Schaefer, 1998). El desove en el OPO ocurrió de forma continua entre 0° y 20°N desde la costa hasta 140°O, mientras que al norte de 20°N y al sur de 0° estuvo restringido a las épocas del año cuando la temperatura superficial del mar superó los 24°C. En todos los océanos, se han recolectado larvas de aleta amarilla con mayor frecuencia con temperaturas superficiales del mar de entre 24,0° y 30,0°C (Richards y Simmons, 1971; Suzuki, 1994). Aunque las larvas de aleta amarilla se encuentran ampliamente distribuidas en el Pacífico, rara vez se han recolectado en grandes cantidades durante estudios oceánicos (Klawe, 1963; Ueyanagi, 1969; Ahlstrom, 1971, 1972; Nishikawa *et al.*, 1985).

El aleta amarilla ha sido estudiado en cautiverio durante varias décadas en el Japón, y Harada *et al.* (1971), Mori *et al.* (1971), Harada *et al.* (1980), y Kaji *et al.* (1999) presentaron síntesis de los esfuerzos por cultivar las crías. Pese a relatos publicados de la distribución oceánica, identificación, y cultivo limitado de aleta amarilla joven, la información disponible sobre su biología y tasas vitales durante el ciclo vital temprano es sorprendentemente escasa.

Es asimismo escasa la información sobre los hábitos alimenticios de las larvas de aleta amarilla. Uotani *et al.* (1981) reportaron sobre la selección de alimento de aletas amarillas de entre 2,6 y 11,6 mm de talla estándar (SL) recolectados en aguas al noroeste de Australia. No se desglosó la dieta por tamaño de las larvas. Hornick (1989) reportó sobre los hábitos alimenticios de unas pocas larvas de aleta amarilla (3,5 a 11,5 mm SL) recolectadas en el Estrecho de Florida. No se dispone actualmente de mayor información sobre los hábitos alimenticios de las larvas de aleta amarilla.

La selección de presas durante las etapas de primera alimentación es un aspecto crucial de la ecología alimenticia y nutrición de las larvas de aleta amarilla. El número y tipo de las presas consumidas durante los primeros días de alimentación son críticos para la supervivencia temprana de los atunes larvales, particularmente con temperaturas de agua elevadas. Margulies (1993) descubrió que el destino nutritivo de larvas de escómbridos tropicales en primera alimentación en el Golfo de Panamá era decidido en los dos primeros días de alimentación en aguas de 27,0°C de temperatura. Estimaciones de tasas de mortalidad para el aleta amarilla sugieren que las larvas están sujetas a una alta mortalidad diaria (Lang *et al.*, 1994), y gran parte de esta mortalidad podría estar relacionada con la alimentación y nutrición durante la etapa larval temprana.

Se realizó el presente estudio como parte de una investigación de laboratorio de la alimentación, desarrollo, y crecimiento de larvas de aleta amarilla. En el trabajo relacionado de Wexler *et al.* (2001) se presentan los resultados de los estudios de crecimiento en el laboratorio. Los objetivos de los experimentos de alimentación descritos en el presente estudio fueron: (1) examinar el número y tipo de presas consumidas por larvas de aleta amarilla en primera alimentación enfrentadas con combinaciones de presas mixtas; (2) caracterizar el comportamiento de alimentación y velocidad de natación de larvas de aleta amarilla en primera alimentación; (3) realizar un análisis preliminar de los efectos potenciales de la microturbulencia sobre la selección de presas por las larvas de aleta amarilla; y (4) determinar los mejores tipos de alimento para el cultivo de larvas de aleta amarilla.

MÉTODOS Y MATERIALES

Colección de huevos y larvas

Los experimentos fueron llevados a cabo en la Estación Experimental Yaeyama de la Japan Sea Farming Association (JASFA) en la Isla Ishigaki en la Prefectura de Okinawa (Japón). La Isla Ishigaki está situada en 24°50'N, 124°20'E en las islas Yaeyama, el grupo de islas más sureño del Japón, situado al suroeste de Okinawa y al este de Taiwan (Figura 1). La Isla Ishigaki linda al norte y oeste con el Mar de China Oriental y al sur y este con el Océano Pacífico. El clima de la región es subtropical, con temperaturas superficiales del mar generalmente entre 22° y 30°C sobre una base anual (JASFA, datos inéditos). Desde 1986 se mantienen atunes aleta amarilla en corrales marinos anclados en una bahía adyacente a la Estación Yaeyama (Masuma *et al.*, 1993). Durante mayo de 1992 un grupo de 12 aletas amarillas, formado por peces de entre 3 y 6 años de edad, comenzó a desovar en un corral cilíndrico de 20 m de diámetro y 8 m de profundidad. El desove continuó hasta fines de octubre de 1992.

Se realizó el experimento de selección de alimento a mediados de octubre. Se colectaron huevos fertilizados (Figura 2, fotografía superior) del corral marino a las 2130 h del 10 de octubre con una temperatura superficial del mar de 26,5°C. Se transportaron los huevos al laboratorio de Yaeyama y se colocaron en tanques de cría cilíndricos de 1000 L de capacidad; la temperatura de incubación varió de 26,0° a 26,9°C. Aproximadamente 22 h después de la fertilización, más del 50% de los huevos había eclosionado (Figura 2, fotografía central). Se asignaron las larvas en etapa de saco vitelino al azar a dos tanques cilíndricos de 1,5 m de diámetro, cada uno con 300 L agua de mar filtrada, inicialmente a una densidad de 4 larvas L⁻¹. Durante esta etapa la temperatura del agua en los tanques varió de 25,5° a 26,5°C. Aproximadamente 2,5 días después de la eclosión, las larvas habían desarrollado ojos pigmentados y bocas funcionales, indicando que estaban listos para alimentarse (Figura 2, fotografía inferior).

Experimentos de alimentación

En los experimentos de selección de presa, se ofreció a los aletas amarillas en primera alimentación alimento consistiendo de partes casi iguales de dos tipos de zooplancton: (1) zooplancton silvestre clasificado por tamaño capturado en aguas locales; y (2) rotíferos cultivados. Se combinó la presa silvestre con rotíferos cultivados usados comúnmente en la maricultura para proveer un alimento diverso para las larvas (Figura 3). El zooplancton silvestre consistió principalmente de nauplios de copépodo, copépodos juveniles y adultos, nauplios de otros invertebrados, fitoplancton, y tintinidos, y fue clasificado por tamaño entre 43 y 261 µm. Los rotíferos fueron cultivados en la alga verde unicelular *Nannochloropsis* sp. y enriquecidos con aceite de calamar antes de ser usados como alimento para las larvas. Los rotíferos midieron entre 88 y 175 µm de ancho. Se mantuvieron cultivos moderados de *Nannochloropsis* sp. en los tanques a concentraciones de 500.000 células mL⁻¹. Se mantuvo una aeración suave para causar mezcla de presas a baja velocidad. La turbulencia producida por la aeración movió partículas inánimes a <0,5 cm sec⁻¹ (medido con reglas colocadas en la pared de los tanques) en dirección horizontal o vertical. Hubo iluminación natural indirecta en el laboratorio desde el amanecer (0630 h) hasta las 1000 h; se usó luz fluorescente de techo de 1000 h a 1700 h, y de nuevo iluminación natural indirecta desde 1700 h hasta el ocaso (1900 h). Este horario de iluminación produjo un ambiente fótico escalonado, con los siguientes niveles de luz a una profundidad de 15 cm en cada tanque: 0630-1000 h: 70-200 lux; 1000-1700 h: 380-420 lux; 1700-1900 h: 70-200 lux; 1900-0630 h: niveles no detectables (< 1 lux).

La duración del experimento de alimentación fue de 4 días. La concentración de alimento en cada tanque varió de 1.500 a 2.000 organismos L⁻¹, y se midieron los niveles de alimento tomando el promedio de dos alícuotas de 100 mL tomadas dos veces al día. La concentración de alimento varió por ± 10 a 15% de los niveles nominales (objetivo). A intervalos de 12 a 24 horas se tomaron muestras de

larvas de cada tanque. Inicialmente fueron fijadas en formol al 10%, y al cabo de 24 horas transferidas a formol al 5% para análisis del contenido intestinal. Al mismo tiempo se tomaron alicuotas de agua entera de 500 mL al azar de cada tanque para medir la abundancia relativa de cada tipo de presa a fin de calcular los índices de presa selectividad. Se aspiró y filtró cada alicuota por un embudo de Buchner, y se concentró todo el zooplancton en filtros de 35 μm de luz de malla y se fijó en formol al 5%. En los Días 3 y 4 del experimento se tomaron muestras adicionales de zooplancton a varias profundidades y en la superficie de cada tanque para determinar si había diferencias en la abundancia de las presas a distintas profundidades que no detectaba el muestreo rutinario por alicuota.

Se realizaron cambios de 50% del agua diariamente, sacándolo con sifón lento y reemplazándolo a través de tubos de PVC con filtros en cada tanque. Se realizaron los cambios lentamente a fin de reducir al mínimo cualquier cambio en el patrón de circulación en los tanques. Se midieron los niveles de amoníaco a diario. Los experimentos de alimentación fueron llevados a cabo a temperaturas del agua de entre 25,0° y 26,1°C.

Durante los dos primeros días de alimentación, se transfirieron ~50 larvas de un tanque de reserva a acuarios de cristal para observar su comportamiento de natación y táctica de alimentación. Se estimaron la velocidad sostenida de natación y las distancias de reacción usando escalas de distancia colocadas en los lados de los acuarios; se registraron observaciones de larvas individuales durante intervalos de 15 segundos. Se filmaron las larvas para análisis del comportamiento de natación y de alimentación. Se supuso que la velocidad de natación y las distancias de reacción medidas para las larvas de reserva en los acuarios de cristal eran representativas de las de las larvas alimentadas durante los cuatro días del experimento de alimentación. La temperatura del agua en los acuarios de observación varió de 26,0° a 26,5°C, y mientras se realizaban los observaciones de la natación, se alimentó a las larvas con rotíferos a una concentración de 1.000 L⁻¹.

Análisis de las muestras

Se tomaron medidas del cuerpo de las larvas de aleta amarilla con un microscopio de disección estereoscópico con un micrómetro ocular. Se midió al 0,1 mm más cercano la talla total, la longitud del notocordio (NL), y el ancho de la boca. Se despedazó en glicerina el tracto digestivo de cada larva. Se añadió tinte Clorazol Negro E a la glicerina para ayudar en la identificación de presas (Judkins y Fleminger, 1972). Se clasificó la condición del intestino con una escala de 1 a 5 (1 = vacío; 2 = < medio lleno pero no vacío; 3 = medio lleno; 4 = > medio lleno pero < lleno; 5 = lleno), y el estado de digestión de cada presa con un a escala de 1 a 3 (1 = totalmente digerido; 2 = parcialmente digerido; 3 = presa intacta) (Young y Davis, 1990). Las presas fueron identificadas al menor grupo taxonómico posible, contadas, y medidas en sus ejes mayores longitudinal y latitudinal.

Cada muestra de zooplancton tomada para el análisis de selectividad de presas fue resuspendida a un volumen de 200 mL, y se tomaron cinco alicuotas al azar con una pipeta Hensen-Stempel (volumen 10 mL). Todos los organismos en cada alicuota fueron identificados al menor grupo taxonómico posible, y se midió y pesó un subconjunto de los mismos (20 organismos por grupo taxonómico por alicuota). Los conteos medios de los organismos en las alicuotas representaron el número relativo de individuos de cada grupo taxonómico de zooplancton en cada tanque.

Análisis de datos

Se analizó la dieta de las larvas de aleta amarilla en términos de abundancia numérica, frecuencia de ocurrencia y peso. Se expresó la abundancia numérica de un tipo particular de presa en el intestino larval como porcentaje del número total de presas (%N). Se calculó la frecuencia porcentual de ocurrencia de una presa (%F) entre larvas con alimento en el intestino. Se calculó el producto de ambos porcentajes (%N x %F) como índice de importancia relativa (N x F) (Govoni *et al.*, 1983). Se convirtieron

los datos de talla y ancho para cada grupo taxonómico de presas a pesos secos usando los valores de conversión de Gruzov y Alekseyeva (1970), Chisholm y Roff (1990), y van der Meeren (1991), y se expresaron como el porcentaje de la biomasa total de presas representado por un tipo particular de presa (%Wt). Se convirtieron los pesos secos a equivalentes energéticos usando los factores de conversión de Theilacker y McMaster (1971) y Laurencia (1976). Se agruparon los datos de dieta de tanques replicados por grupo taxonómico de presas para cada día de alimentación tras comprobar la homogeneidad de la varianza y diferencias en la abundancia numérica (porcentual) media (prueba de t sobre datos transformados en arcoseno) (Zar, 1984). Se calcularon también para cada día de alimentación la incidencia de alimentación (el porcentaje de larvas con al menos una presa en el intestino) y el número de presas por intestino. Se compararon los valores medios de digestión de los grupos taxonómicos principales con un análisis de varianza no paramétrico (Prueba Kruskal-Wallis) (Zar, 1984) para examinar diferencias potenciales entre grupos taxonómicos en las tasas de digestión.

Se analizó la selección de presas usando una modificación del índice C de Pearre (1982). Dicho índice se basa en un análisis de ji cuadrado, usando una tabla de contingencia 2 x 2, de la distribución de frecuencia de presas en la dieta *versus* su distribución en el medio ambiente. Se calcula el índice evaluando primero la estadística de ji cuadrado para la distribución de frecuencia de una presa (especie A) como:

$$\chi^2 = \frac{n (|a_d b_e - b_d a_e| - n/2)^2}{a \cdot b \cdot d \cdot e}$$

a_d = número de individuos de la especie A en la dieta,

b_e = número de individuos de todas otras especies en el medio ambiente,

b_d = número de individuos de todas otras especies en la dieta,

a_e = número de individuos de la especie A en el medio ambiente,

a = número de individuos de la especie A en la dieta y el medio ambiente,

b = número de individuos de todas otras especies en el intestino y el medio ambiente,

d = número total de individuos de todos grupos en la dieta,

e = número total de individuos de todos grupos en el medio ambiente, y

n = número total de individuos de todos grupos en la dieta y el medio ambiente.

Entonces

$$C = \pm (\chi^2 / n)^{1/2}$$

El valor de C varía de -1 a +1; un valor negativo indica selección negativa, 0 = alimentación aleatoria, y un valor positivo indica selección positiva. Se puede determinar el significado estadístico de un valor de C calculado para cualquier grupo taxonómico de presas mediante un análisis de tabla de contingencia 2 x 2 (es decir, se contrastan en la dieta y el medio ambiente las distribuciones de frecuencia de un grupo taxonómico de presas dado con todas las otras presas (Pearre, 1982)).

Para este experimento se calculó un índice C modificado para los tres grupos principales de presas (nauplios de copépodo, copépodos juveniles y adultos, y rotíferos), tomando en cuenta: (1) la velocidad de natación relativa de los depredadores (larvas de aleta amarilla) y presas (zooplankton), y (2) el efecto de la mezcla turbulenta introducida en el tanque por una aeración suave. Ambos factores ejercen una influencia sobre la probabilidad relativa de encuentro entre depredadores y presas planctónicas, y si se incorporan en el cálculo de un índice de selección ponderado por encuentro, brindan una medida más realista de la preferencia de presas que uno basado en la densidad relativa de presas solamente. Se calculó el índice C modificado mediante una ponderación por encuentro del número de presas encontradas en el medio ambiente (es decir, cambiando a_e , b_e y e en la fórmula del índice C). Se determinó la probabilidad de encuentro combinando los procedimientos de ponderación por encuentro para

plancton desarrollados por Buskey *et al.* (1993) y Rothschild y Osborn (1988). Este método implica añadir términos para la velocidad de natación relativa de depredadores y presas y los efectos de turbulencia al modelo original de encuentro depredador-presa de Gerritsen y Strickler (1977). Se expresa el modelo modificado como:

$$Z_{pi} = \pi R^2 N (u^2 + 3v^2 + 4w^2) / 3(v^2 + w^2)^{1/2}$$

donde

- Z_{pi} = tasa de encuentro de depredadores y presa i (encuentros sec^{-1}),
- R = distancia de reacción de una larva de aleta amarilla de 3,5 mm NL (3 mm) (Tabla 2),
- N = densidad de presa i (1000 individuos L^{-1}),
- u = velocidad de natación de la presa i (por grupo taxonómico) (mm sec^{-1}),
- v = velocidad de natación del depredador (larva de aleta amarilla de 3,5 mm NL) (7 mm sec^{-1}) (Tabla 2), y
- w = valor medio cuadrático de la velocidad del agua turbulenta ($1,8 \text{ mm sec}^{-1}$).

No se midieron directamente los valores de u , sino que se tomaron de datos experimentales en la literatura sobre la velocidad de natación de zooplankton similar a los que se usaron en nuestro experimento. Se usó un valor modal de $2,0 \text{ mm sec}^{-1}$ como estimación de la velocidad sostenida de natación de copépodos juveniles y adultos (Hardy y Bainbridge, 1954; Shuvayev, 1978). Se usaron valores de $0,5 \text{ mm sec}^{-1}$ y $0,2 \text{ mm sec}^{-1}$ para la velocidad de natación de los rotíferos y los nauplios de copépodo (Buskey *et al.*, 1993), respectivamente. Se estimaron los valores de R y v durante este estudio mediante la observación de la natación de larvas de aleta amarilla en acuarios (Tabla 2). Se seleccionó una densidad de 1000 individuos L^{-1} como densidad de presa (N) estándar. Se estimó el valor de w a partir de la relación:

$$w^2 = 3.6 (r)^{2/3} \text{ (Muelbert } et al., 1994)$$

donde

- w = valor medio cuadrático de la velocidad del agua turbulenta (cm sec^{-1}),
- = tasa de disipación de energía cinética turbulenta (10^{-7} vatios (W) m^{-3}), y
- r = una distancia de descorrelación, la distancia a la cual las fluctuaciones en w devienen no correlacionadas (10^{-2} m)

El valor de w es solamente una aproximación debido a la incertidumbre en medir en los tanques experimentales. La estimación de w de los datos de campo sobre las tasas de disipación turbulenta medidas en sistemas oceánicos provino de MacKenzie y Lhuevoett (1993) y Muelbert *et al.* (1994). Se supuso que la tasa de disipación en nuestros tanques experimentales fue igual a las tasas de disipación mínimas detectables ($\sim 10^{-7} \text{ W m}^{-3}$) reportadas para hábitats oceánicos en la capa de mezcla. El valor de r fue tomado de Muelbert *et al.* (1994).

Se calculó una tasa estimada de encuentro (Z_{pi}) para cada grupo principal de presas incorporando términos de velocidad de natación y turbulencia en el modelo de Gerritsen y Strickler (1977). A continuación se dividió esta tasa de encuentro por la tasa de encuentro calculada para una presa estacionaria (Z_0), resultando en una razón de encuentro relativo (Z_{pi}/Z_0) para cada grupo de presas. Se multiplicó la razón de encuentro para cada grupo por el número de individuos de ese grupo de presas en los tanques para producir una abundancia de presas ponderada por encuentro. Se usaron las abundancias de presas modificadas en el cálculo del índice de C ponderado por encuentro.

Se estimó un índice de C (ponderado por encuentro) para cada grupo principal de presas para cada día del experimento. Se realizó una agrupación de las distribuciones de frecuencia de las presas después de un análisis de heterogeneidad de las tablas de contingencia 2×2 entre los tanques replicados (Zar, 1984).

RESULTADOS

Composición por tamaño de los huevos y larvas

El diámetro medio de los huevos de aleta amarilla fertilizados recolectados en los corrales marinos y conservados en formol fue $1,0 \text{ mm} \pm 0,00$ de desviación estándar (DE). En el momento de eclosión, las larvas conservadas midieron en promedio $2,51 \text{ mm NL} \pm 0,10 \text{ DE}$. La talla media de las larvas en primera alimentación conservadas en formol fue de $3,45 \text{ mm NL} \pm 0,07 \text{ DE}$. La talla media disminuyó a $3,40 \text{ mm NL}$ en el Día 2 de alimentación, aumentó a $3,44 \text{ mm}$ el Día 3, y fue en promedio $3,65 \text{ mm}$ el Día 4 (Figura 4). La tasa media de crecimiento en talla fue de $0,05 \text{ mm día}^{-1}$.

Combinaciones de presas

El zooplancton disponible como presa a las larvas de aleta amarilla consistió de 19 grupos taxonómicos (Tabla 1). El coeficiente de variación de los conteos de zooplancton generalmente varió del 4 al 8% por grupo taxonómico por día. En las poblaciones de presas predominaron en número los nauplios de copépodo (44 a 54% del total de presas por día), rotíferos (31 a 40%), una variedad de copépodos juveniles y adultos (3,1 a 6,6%), y huevos de invertebrados (1,6 a 6,8%). Los demás grupos taxonómicos formaron del 3,4 al 8,5% de las presas cada día. En el componente de copépodo juvenil y adulto predominaron en número los ciclopoideos (formando del 1,8 al 3,8% de los organismos de forraje cada día), seguidos por los calanoides (1,0 a 2,4%) y harpactacoideos (0,3 a 0,7%).

Comportamiento de natación y alimentación de las larvas

Se estimó la velocidad de natación de crucero de las larvas de aleta amarilla en primera alimentación en aproximadamente dos longitudes de cuerpo por segundo ($\sim 7 \text{ mm sec}^{-1}$) (Tabla 2). La distancia media de reacción de las larvas en primera alimentación fue aproximadamente 3 mm (Tabla 2), y la duración de ataques individuales de alimentación de 1 a 2 segundos.

El comportamiento de alimentación fue caracterizado por natación constante mientras se buscaba presa, interrumpida por una pausa breve durante la inspección de la presa, seguida por flexión sinuosa del cuerpo con la cola mantenida en posición de alta amplitud, y luego ataque. A veces no se completaron los ataques después de la flexión inicial del cuerpo. En el caso de un ataque fracasado, las larvas mostraron la capacidad de cambiar de dirección e iniciar otro ataque sobre la misma presa.

Composición de la dieta

Se realizaron análisis de la dieta en 199 larvas. La incidencia de alimentación fue elevada, en promedio 94,9% el Día 1, 100% el Día 2, 100% el Día 3, y 96,9% el Día 4 (Tabla 3). Las larvas consumieron 10 de los 19 tipos de presa presentados durante los cuatro primeros días de alimentación, pero predominaron en número en la dieta los nauplios de copépodo y copépodos juveniles y adultos (Tabla 3). Los nauplios de copépodo constituyeron del 91,2 al 96,1% de la presa total consumida cada día. Durante los cuatro días del estudio, la abundancia numérica de los copépodos juveniles y adultos en la dieta aumentó del 1,4% (Día 1) al 7,5% (Día 4). Todos los copépodos identificables en los intestinos de las larvas fueron copépodos ciclopoideos. El número de rotíferos consumido fue bajo (del 0,4 al 2,1% del número total de presas consumido por día), pese a que formaban del 31 al 40% del alimento disponible. El número de otras presas consumidas, entre ellas huevos de invertebrado, tintínidos, y fitoplancton, fue asimismo bajo ($< 2,0\%$ en número por día). Los nauplios de copépodo fueron consumidos por entre el 97 y 100% de las larvas en alimentación cada día. La frecuencia de ocurrencia de copépodos juveniles y adultos en los intestinos de las larvas aumentó del 31,4% el Día 1 al 68,3% el Día 4. Los rotíferos fueron consumidos por entre el 3,2 y el 28,6% de las larvas en alimentación cada día.

En la biomasa de presas predominaron los nauplios de copépodo, constituyendo del 80,0 al 90,4% de la biomasa del contenido intestinal cada día. La biomasa de copépodos juveniles y adultos en los

intestinos aumentó por un factor de 4 (5,0 a 18,8%) durante los 4 días del estudio. Los rotíferos constituyeron del 0,8 al 2,5% de la biomasa consumida diariamente. Todas las demás presas formaron 2,1% de la biomasa consumida cada día.

El estado de digestión medio de los nauplios, copépodos, rotíferos, y todas las demás presas no fueron significativamente diferentes (prueba de Kruskal-Wallis, $P > 0,1$). El estado de digestión medio diario de todas las presas combinadas varió de 2,5 a 2,8 (Figura 5). La condición media diaria del intestino (incluyendo larvas con el intestino vacío) varió de 3,6 a 3,9, indicando que el intestino larval medio estaba entre 50 y 100% lleno (Figura 5).

Número de presas

El número de presas consumido por larva varió de 0 a 48 el Día 1, 1 a 30 el Día 2, 3 a 31 el Día 3, y 0 a 30 el Día 4 (Figura 6). El número medio de presas consumido por larva fue: Día 1 – 20,3; Día 2 – 13,9; Día 3 – 14,9; Día 4 – 13,8. Para el Día 4, pese a que las larvas eran más grandes, consumieron, en promedio, menos presas.

Relación entre el tamaño de la presa y el ancho de la boca de las larvas

El ancho del cuerpo de las presas consumidas por las larvas varió de 30 a 150 μm el Día 1, 30 a 165 μm el Día 2, 30 a 140 μm el Día 3, y 36 a 188 μm el Día 4 (Figura 7). El ancho medio de las presas aumentó como sigue: Día 1 – 57,9 μm ; Día 2 – 60,5 μm ; Día 3 – 63,5 μm ; Día 4 – 67,8 μm . El ligero aumento en el tamaño medio con el tiempo se debió al consumo de nauplios, copépodos, y rotíferos (Figura 8) de tamaño ligeramente mayor, y a que se añadieron mayores cantidades de copépodos juveniles y adultos a la dieta (Tabla 3).

El ancho de la boca de las larvas aumentó con rapidez de un valor medio de 265 μm el Día 1 a 365 μm el Día 4 (Figura 9). Aumentó con mayor rapidez que la longitud del cuerpo, con un incremento de la razón de ancho medio de la boca a longitud media del notocordio de 0,077% el Día 1 a 0,096% el Día 4. En promedio, el tamaño de las presas consumidas fue considerablemente menor de lo que era capaz de acomodar la boca de las larvas (Figura 9). El ancho medio de la presa seleccionada cada día fue solamente del 20 al 22% del ancho medio de la boca de las larvas, aunque larvas individuales consumieron presas de hasta el 59% del ancho de la boca. Durante los cuatro primeros días de alimentación, el tamaño de las presas no varió significativamente con el ancho de la boca de las larvas (Figura 10). La pendiente de una regresión lineal del ancho de la presa sobre el ancho de la boca de las larvas no fue significativamente diferente a cero ($P > 0,3$, $n = 2.410$).

Selección de presas

Las larvas mostraron patrones fuertes de selección de presas (Tabla 4). Todos los días hubo una selección fuerte a favor de nauplios de copépodo, con valores de C ponderado por encuentro de entre + 0,42 y + 0,51, y contra rotíferos (valores de C de entre - 0,43 y - 0,52). Los copépodos juveniles y adultos fueron consumidos en proporciones casi iguales a su abundancia, aunque los Días 2 y 4 las larvas mostraron una ligera selección positiva de copépodos. Se puede inferir una selección positiva de copépodos ciclopoideos y una selección negativa de copépodos calanoides y harpactacoideos, ya que los ciclopoideos fueron los únicos copépodos identificados en los intestinos de las larvas, y constituyeron la gran mayoría de la biomasa de presas de copépodo. La frecuencia de las otras presas en la dieta fue demasiado baja para permitir evaluar su selección.

La inclusión de los efectos de velocidad de natación y turbulencia en la evaluación de la selección de presas mejoró el análisis al transformar la selectividad en términos de encuentros individuales. Las relaciones de selectividad de presas ponderada por encuentro fueron dominadas por la velocidad de natación relativa de las larvas y sus presas. Los efectos de la turbulencia sobre las tasas de encuentro fueron moderados, dado el bajo nivel de aeración en los tanques de alimentación. Se realizó un

análisis de sensibilidad para examinar los efectos potenciales de tasas de disipación por turbulencia más elevadas (Tabla 5). Por ejemplo, si se incrementara la tasa de disipación por turbulencia en los tanques de 10^{-7} a 10^{-5} W m^{-3} (aumento dentro de los límites normales de los niveles de turbulencia oceánica), las tasas de encuentro absolutas entre larvas y presas aumentarían entre un 78 y 82% (Tabla 5).

Energética de las presas

La biomasa estimada de las presas y el contenido energético por intestino larval mostraron aumentos netos del Día 1 al Día 4 de 11% y 9%, respectivamente (Figura 11 A, C). En promedio, hubo una ligera disminución en la biomasa y en la energía consumida el Día 2, aunque los valores para larvas individuales fueron más variables el Día 2 que los otros días. Aunque que no se pesaron de forma rutinaria las larvas, un análisis del peso de unos pocos especímenes indicó una alza modesta del peso de entre el 6 y 8% (peso seco) por larva durante los 4 días. La biomasa por peso de la larva y el contenido energético por intestino larval presentaría por lo tanto un patrón muy similar a aquél ilustrado en la Figura 11.

La biomasa y contenido energético de las presas individuales aumentaron de forma no lineal durante los 4 días de alimentación (Figura 11 B, D). El peso seco por presa mostró un aumento total de aproximadamente 66% mientras que el contenido energético por presa aumentó un 64%. El aumento resultó del consumo de mayores cantidades de copépodos juveniles y adultos y la selección de presas ligeramente mayores.

DISCUSION

Selección de presas

En el laboratorio, las larvas fueron depredadores selectivos desde el inicio de la alimentación. Durante los cuatro primeros días de alimentación mostraron una selección marcada a favor de los nauplios de copépodo, y los nauplios dominaron la dieta en número y peso. El ancho de la mayoría de los nauplios usados en el estudio varió de 40 a 100 μm , con la mayor parte de los individuos entre 50 y 80 μm . La importancia relativa de los copépodos juveniles y adultos en la dieta aumentó rápidamente, y para el segundo día de alimentación las larvas mostraron cierta selección positiva de copépodos ciclopoideos (principalmente copepoditos). Aunque los copépodos juveniles y adultos son generalmente más difíciles de capturar para los planctívoros (Shuvayev, 1978), casi un tercio de las larvas comió copépodos el primer día de alimentación, y este porcentaje aumentó a casi el 70% para el Día 4. Las larvas seleccionaron marcadamente contra los rotíferos durante la primera etapa de alimentación. La selección contra rotíferos contrasta con los resultados de otros experimentos de alimentación CIAT-JASFA con aletas amarillas, en los que las larvas consumieron rotíferos de buena gana cuando fue el único tipo de presa ofrecido.

Los aletas amarillas en primera alimentación seleccionaron presas de entre 35 y 188 μm de ancho, y el ancho medio de la presa consumida cada día varió de 60 a 70 μm . Influyó indudablemente en el rango de tamaños de las presas seleccionadas el rango restringido de tamaños (43 a 261 μm) y composición faunal de las presas ofrecidas a las larvas. La mayoría de las larvas de peces marinos, aun aquellas con boca relativamente grande, comienzan la alimentación con presas de entre 50 y 100 μm de ancho (Houde, 1973; Hunter, 1981). La boca de las larvas de aleta amarilla es relativamente grande con respecto al tamaño del cuerpo, pero en este estudio seleccionaron consistentemente presas considerablemente menores de lo que se pronosticaría a partir del tamaño de la boca solamente. Pese a que el ancho de la boca suele establecer el límite superior de tamaño en la selección de presas por las peces larvales, muchos peces marinos comienzan la alimentación con presas sorprendentemente pequeñas, y las presas de menor tamaño a menudo forman una gran proporción de la dieta durante periodos extendidos (Arthur, 1976; Hunter, 1981; Govoni *et al.*, 1986). Este patrón de alimentación a menudo refleja la

mayor abundancia relativa de muchos tipos de presas microzooplanctónicas pequeñas de tamaño adecuado para las larvas en primera alimentación (Hunter, 1981).

Nuestros resultados de laboratorio sobre la alimentación son consistentes con los resultados de los pocos estudios de campo de los hábitos alimenticios de las larvas de aleta amarilla. Uotani *et al.* (1981) reportaron que en aguas al noroeste de Australia las larvas de aleta amarilla se alimentaron predominantemente de copépodos, nauplios de copépodo, cladoceros, y apendicularianos. La talla de las larvas examinadas varió de 2,6 a 11,6 mm en talla estándar (SL), pero no se desglosó la dieta por categoría de tamaño de las larvas (particularmente los tamaños pequeños). Los patrones de selección de presa fueron similares a nuestros resultados de laboratorio: las aletas amarillas mostraron una selección positiva de nauplios de copépodo y copépodos ciclopoideos (*Corycaeus* spp.). Los resultados de Uotani *et al.* indicaron asimismo una selección positiva de cladoceros y apendicularianos, dos grupos de presas que escasearon en nuestras poblaciones de presas en el laboratorio. Hornick (1989) reportó que en el Estrecho de Florida larvas pequeñas de aleta amarilla (< 5,0 mm NL) comieron nauplios de copépodo y pequeñas cantidades de huevos de invertebrados. El ancho medio de las presas seleccionadas por las larvas pequeñas fue unos 70 μm , similar a nuestros resultados del laboratorio. En el Estrecho de Florida las larvas de mayor tamaño (> 5,0 mm NL) también comieron nauplios de copépodo, pero añadieron copépodos, cladoceros, apendicularianos, y larvas de peces a su dieta (Hornick, 1989).

Comportamiento de natación y alimentación

Las larvas de aleta amarilla parecen alimentarse de forma relativamente activa. Nuestras estimaciones de la velocidad sostenida de natación de larvas en primera alimentación fueron de aproximadamente dos longitudes de cuerpo por segundo ($\sim 7 \text{ mm sec}^{-1}$). Las larvas de la mayoría de los peces marinos demuestran velocidades de natación sostenidas de alrededor de 0,5 a 2,0 longitudes de cuerpo por segundo en la primera alimentación (Hunter, 1981). Tras un ataque de alimentación fracasado, las larvas fueron capaces de cambiar de dirección e iniciar otro ataque sobre la misma presa. Este modo de alimentación fue también observado en larvas de caballa del Pacífico (*Scomber japonicus*) (Hunter y Kimbrell, 1980) y de atún barrilete negro (*Euthynnus lineatus*) de mayor edad (Margulies, 1993), y es posible que sea característico de las larvas de otros escómbridos. El éxito de alimentación de las aletas amarillas fue también relativamente alto (> 95% a 100%) en la primera alimentación en comparación con las larvas de muchos otros peces marinos (Hunter, 1981). La estructura fisiológica del sistema visual de los escómbridos larvales estudiados hasta ahora parece ser avanzada y consistente entre varios géneros de escómbridos (Margulies, 1997). Ya que las larvas de peces usan la visión para localizar el alimento, el éxito inicial de alimentación de las larvas de aleta amarilla podría estar relacionado con un sistema avanzado visual en conjunto con una flexibilidad de maniobra durante la alimentación. Por otro lado, las larvas de aleta amarilla parecen ser más activas que las larvas de muchos otros peces marinos. Este alto nivel de actividad, junto con las altas temperaturas en las que ocurren las larvas de aleta amarilla, debe imponer demandas metabólicas elevadas sobre las larvas y señala una ventana de oportunidad de corta duración para iniciar la alimentación.

Los patrones de selección de presas mostrados por las larvas de aleta amarilla se basan en los atributos biológicos de las larvas y sus presas zooplanctónicas. El tamaño de las presas es a menudo el factor dominante en la selección de presas por peces larvales (Hunter, 1981). El pico en la biomasa de los nauplios de copépodo en nuestro experimento ocurrió con un ancho de los nauplios de entre 50 y 80 μm , lo que quizá coincida con un ancho de presa preferido por larvas de aleta amarilla en primera alimentación. Los rotíferos solieron ser de tamaño ligeramente mayor, y es posible que no hayan sido seleccionados debido a su tamaño. La selección de presas puede también ser afectada por la morfología, color, y comportamiento de las mismas (Govoni *et al.*, 1986). Los nauplios de copépodo chapotean y se desplazan en zigzag al nadar (Shuvayev, 1978), y es posible que sean más fáciles de detectar para las larvas cuando buscan alimento. Por contraste, aunque los rotíferos no demuestran

casi ninguna capacidad de escape, nadan en trayectoria lenta y suave que podría no ser tan aparente a las larvas cuando buscan presas. Los copépodos ciclopoideos, que nadan dando brinco y a velocidades moderadamente lentas (Hardy y Bainbridge, 1954; Shuvayev, 1978), fueron los únicos copépodos juveniles y adultos identificados en los intestinos de las aletas amarillas en nuestros experimentos. Los copépodos calanoides suelen nadar rápida y activamente (Gauld, 1966; Shuvayev, 1978), y su ausencia en la dieta de las larvas en primera alimentación podría reflejar la incapacidad de las larvas pequeñas de capturar estas presas más veloces. Parece posible que las larvas de aleta amarilla requieran cierto periodo de tiempo para incrementar su éxito de captura de presas más grandes y evasivas tales como los copépodos juveniles y adultos.

Efectos potenciales de la microturbulencia sobre la alimentación

En nuestro análisis de la selectividad de presas del aleta amarilla, una consideración de los efectos de velocidad de natación y turbulencia produjo una descripción más realista de la alimentación larval que la que se obtendría considerando solamente la densidad relativa de los organismos. Al añadir los componentes de velocidad de natación y turbulencia se transformó el análisis de tasas de encuentro a una base de encuentros individuales. Los niveles de turbulencia estimados en nuestros tanques experimentales ($\varepsilon = 10^{-7}$ vatios m^{-3}) fueron bajos y ejercieron una influencia tan solo moderada sobre las tasas de encuentro medidas por el modelo de Gerritsen y Strickler (1977). Con tasas de turbulencia bajas, la relación de encuentro ponderada entre larvas de aleta amarilla y sus presas fue dominada por la velocidad relativa de natación de depredadores y presas. La velocidad de natación relativamente alta de las larvas en relación con su presa fue particularmente importante en la relación. Ponderar el modelo depredador-presa resultó en aumentos netos en las tasas de encuentro de entre +0,5% para los rotíferos y +6,0% para los copépodos. De mayor importancia es que nuestro análisis de sensibilidad señaló los fuertes efectos potenciales que un aumento en los niveles de turbulencia ejercería sobre las tasas de encuentro. Por ejemplo, al incrementar la tasa de disipación turbulenta en nuestros tanques de 10^{-7} a 10^{-5} vatios m^{-3} (equivalente al aumento en la turbulencia causado por un incremento de 4 a 5 veces en la velocidad sostenida del viento en la superficie del océano; Rothschild y Osborn 1988), las tasas de encuentro de las larvas en primera alimentación y las presas se duplicarían. Este aumento sería biológicamente significativo porque las larvas dependerían de la energía turbulenta y no de la energía metabólica para incrementar las tasas de encuentro con sus presas. El efecto de la turbulencia sería también más pronunciado para las larvas más pequeñas y menos móviles (por ejemplo, aletas amarillas en primera alimentación).

Cabe mencionar ciertas reservas con respecto a nuestro modelo de los efectos potenciales de la turbulencia. El modelo de Gerritsen y Strickler que utilizamos supone que las larvas de aleta amarilla buscan presas en modalidad de crucero (es decir, que nadan constantemente mientras buscan) y que perciben las presas dentro de un volumen esférico de agua. Aunque son necesarios análisis más detallados del comportamiento de búsqueda, nuestras observaciones en este estudio indican que es posible que las larvas de aleta amarilla busquen sus presas usando un método de "pausa-desplazamiento" (*i.e.* no nadan constantemente sino que pausan intermitentemente para buscar presa; Browman y O'Brien, 1992). Se ignora el campo de percepción de las larvas de aleta amarilla, aunque estudios recientes indican que el campo de percepción de las larvas de ciertos peces podría ser aproximadamente una media esfera o cuña apuntada hacia adelante (Browman y O'Brien, 1992) en lugar de una esfera. Estas incertidumbres acerca de la modalidad de búsqueda y el campo de percepción del aleta amarilla podrían sesgar nuestro modelo hacia una sobreestimación de las tasas de encuentro *absolutas*. Sin embargo, el uso del modelo de Gerritsen y Strickler no cambia el análisis de los efectos *potenciales* de la turbulencia y la velocidad de natación sobre la tasa de encuentro. De hecho, MacKenzie y Kiorboe (1995) demostraron, usando una modificación del modelo de Gerritsen y Strickler, que en términos *relativos* la tasa de encuentro para una especie "pausa-desplazamiento" se incrementa con mayor rapidez con la

turbulencia con respecto a la de una especie que busca "en crucero". Aunque persisten las incertidumbres en los parámetros de nuestro modelo del aleta amarilla, creemos que nuestro análisis del encuentro es un buen modelo de guía para la evaluación de los efectos potenciales de la turbulencia y la velocidad de natación sobre el éxito de alimentación de las larvas de aleta amarilla.

Se ha citado la turbulencia a pequeña escala como mecanismo impulsor potencialmente importante en la dinámica de alimentación de los peces larvales. La mezcla turbulenta en los hábitats de los peces larvales es normalmente introducida por medio del viento (Rothschild y Osborn, 1988), mezcla por marea (Muelbert *et al.*, 1994), afloramiento (MacKenzie y Lhuevoett, 1993), y en los frentes entre cuerpos de agua (MacKenzie y Lhuevoett, 1991). Se han usado simulaciones teóricas para pronosticar que un aumento en la turbulencia incrementará las tasa de encuentro entre los peces larvales y sus presas (Rothschild y Osborn, 1988), y algunos estudios de campo recientes respaldan esta teoría (Sundby y Fossum, 1990; Muelbert *et al.*, 1994). Sin embargo, la turbulencia parece ser beneficiosa solamente hasta un nivel intermedio, por encima del cual las tasas de ingestión de las larvas disminuyen (debido a un éxito reducido en la persecución de presas) (MacKenzie *et al.*, 1994) u ocurre desagregación de las manchas de presas (Haury *et al.*, 1990). Dados los bajos niveles de turbulencia inducida en nuestros experimentos, es probable que aumentar la turbulencia mejoraría las condiciones de alimentación para las larvas de aleta amarilla hasta un nivel óptimo de turbulencia todavía no determinado. Las larvas de aleta amarilla en el Océano Pacífico ocurren casi exclusivamente en hábitats de la capa superior de mezcla, a menudo en los 20 m superiores de la columna de agua (Richards y Simmons, 1971; Boehlert y Mundy, 1994). Cambios inducidos físicamente en las tasas de contacto de plancton suelen ser máximas en las aguas superficiales y disminuyen con la profundidad (MacKenzie *et al.*, 1994). Análisis previos de la relación entre el número de reclutas de aleta amarilla en el OPO y la mezcla por el viento en parte de la zona de desove indicaron una correlación positiva débil que no era estadísticamente significativa (Anónimo, 1988: pág. 172). Por otra parte, Forsbergh (1989) descubrió una correlación negativa significativa entre la tasa de captura de reclutas de atún barrilete (*Katsuwonus pelamis*) en el OPO y un índice de mezcla por el viento en las zonas de desove entre 135° y 180°O en el Pacífico. Su análisis se basó en el supuesto de que la mayoría del desove de barrilete tenía lugar al oeste de 135°O. Dada la distribución epipelágica de las larvas de aleta amarilla, y considerando los resultados de nuestro análisis de los efectos de la turbulencia sobre la alimentación en el laboratorio, parece que la turbulencia a microescala podría potencialmente influir de forma importante en el éxito de la alimentación de las larvas de aleta amarilla.

Energética de las presas

Nuestros datos de laboratorio indicaron que las larvas de aleta amarilla se alimentan selectivamente y aumentaron su insumo energético por presa con el tiempo en las altas densidades de presas ofrecidas en nuestros experimentos. Durante los cuatro primeros días de alimentación, el aumento en la energía consumida por larva fue alrededor de 10%, y el aumento en el contenido energético de cada presa consumida fue aproximadamente 64%. Este aumento fue directamente atribuible a la selección de mayores cantidades de copépodos juveniles y adultos. En sus etapas de copepodito y adulta los copépodos contienen de 2 a 10 veces el valor calórico de los nauplios de copépodo, los rotíferos, y la mayoría de los demás nauplios de invertebrado (Theilacker y Dorsey, 1980; Chisholm y Roff, 1990). El patrón de alimentación de las aletas amarillas consistió en una selección positiva sostenida de nauplios de copépodo combinada con la adición bastante rápida a la dieta de copépodos juveniles algo mayores, menos frecuentes, y adultos. Esta modalidad de alimentación, en la cual el tamaño mínimo de las presas cambia lentamente a medida que crecen las larvas y se añaden rápidamente a la dieta presas relativamente grandes y menos frecuentes (incluyendo las larvas de otros peces), parece ser característica de las larvas de escómbrido (Hunter y Kimbrell, 1980; Jenkins *et al.*, 1984; Young y Davis, 1990; Margulies, 1993; Wexler, 1993). Aunque examinamos solamente los cuatro primeros días de

alimentación en nuestros experimentos, las larvas de aleta amarilla habían comenzado a demostrar este patrón de alimentación con concentraciones elevadas de presas. El aumento rápido en el tamaño de la boca de las larvas permite este tipo de alimentación al reducir al mínimo cualquier limitación debida a presas grandes. El patrón de alimentación demostrado por las larvas de aleta amarilla podría ser adaptivo para el desarrollo en mares cálidos como las regiones del Pacífico tropical y subtropical que son caracterizadas por niveles variables de producción secundaria.

Dietas de cría

Nuestros experimentos indican que una dieta de plancton silvestre que consiste de nauplios de copépodo y/o copépodos juveniles podría ser el mejor alimento inicial para la cría de larvas de aleta amarilla. Los nauplios de copépodo parecen ser una presa de tamaño preferido en la primera alimentación y podrían proporcionar la mejor nutrición en términos de ácidos grasos, aminoácidos, y perfiles de enzimas (Watanabe *et al.*, 1983; Naess *et al.*, 1995). Las larvas en primera alimentación seleccionan copépodos ciclopoideos en preferencia a otros tipos de copépodo; esto podría reflejar una preferencia activa por las larvas o que los ciclopoideos son más fáciles de capturar. Los ciclopoideos que podrían ser buenos candidatos para usar en el cultivo en masa de aletas amarillas incluyen *Oithona* spp. y *Corycaeus* spp. Las larvas de aleta amarilla comen los rotíferos cuando son el único alimento que se les ofrece, y en el Japón se usan los rotíferos rutinariamente como alimento inicial para los atunes larvales (JASFA, datos inéditos; Kaji *et al.*, 1999). Sin embargo, las larvas de aleta amarilla evitan fuertemente los rotíferos si se incluyen en una dieta mixta con copépodos; parece que los rotíferos son rechazados en la etapa de primera alimentación por su tamaño percibido (mayor que los nauplios de copépodo) y/o sus patrones de movimiento. Los rotíferos usados en nuestro experimento fueron enriquecidos con un aceite de calamar emulsionado. Estudios recientes indican que los aceites enriquecedores emulsionados no proporcionan el mismo nivel de ácidos grasos esenciales para las larvas de peces que los medios de enriquecimiento que contienen altos niveles del ácido graso no saturado ácido docosaheptaenoico (ADH) (Barclay y Zeller, 1996). Como alimento inicial para las larvas de aleta amarilla, recomendamos que se mezclen los rotíferos con copépodos o que se enriquezcan los rotíferos con un medio con alto contenido de ácido graso ADH.

El ciclo vital temprano del atún aleta amarilla

Las larvas de aleta amarilla ocurren por todo el Pacífico tropical durante todos los meses del año, y en la mayor parte del Pacífico subtropical durante temporadas extendidas (Suzuki *et al.*, 1978; Nishikawa *et al.*, 1985). Se han señalado algunas regiones locales con abundancia elevada de aletas amarillas larvales en el Pacífico cerca de islas y montes submarinos (Leis *et al.*, 1991; Boehlert y Mundy, 1994), zonas ecuatoriales de afloramiento (Suzuki *et al.*, 1978) y regiones costeras de afloramiento (Klawe, 1963). Sin embargo, todavía queda por demostrar que la mayor abundancia de larvas de aleta amarilla en estos hábitats esté relacionada con condiciones más favorables para la nutrición, crecimiento, o supervivencia de las larvas. Son típicas de la mayoría de estas regiones niveles de producción primaria y secundaria moderados o estacionalmente elevados (Blackburn *et al.*, 1970; Sameoto, 1986), pero no se han establecido vínculos claros entre una productividad más alta y una mayor supervivencia de las larvas de aleta amarilla. Esto se debe en gran parte a la incertidumbre acerca de los patrones espaciales y temporales del desove de la aleta amarilla y a la falta de información sobre la dinámica de manchas de los huevos y larvas de la especie. No se sabe seguro si los patrones de reclutamiento de aleta amarilla son locales por región o si son de escala verdaderamente oceánica. Estudios previos cerca de islas del Pacífico sugieren que la distribución de las aletas amarillas larvales parece ser el producto de influencias medioambientales sobre el desove de los adultos (Boehlert y Mundy, 1994). Si el reclutamiento de la aleta amarilla es impulsado por la supervivencia de las larvas, el éxito de la ali-

mentación temprana y su influencia sobre la supervivencia y crecimiento tiene un potencial fuerte para regular el número de reclutas, al menos a escala gruesa (Houde, 1987, 1989). El éxito de alimentación de las larvas de aleta amarilla puede ser medido *in situ* mediante índices de inanición y tasas de crecimiento o indirectamente midiendo sustitutos medioambientales para niveles de alimento y el éxito de alimentación larval (por ejemplo, temperatura, datos de viento, medidas de productividad). Se puede usar cualquiera de estos dos métodos para hacer comparaciones con los niveles de reclutamiento que podrían servir para refinar los análisis del reclutamiento. Sugerimos que estudios de laboratorio como el nuestro podrían ser el mejor enfoque para un examen inicial de la dinámica de alimentación de las larvas de aleta amarilla y la formulación de hipótesis para probar *in situ*.

Los resultados de nuestros experimentos de alimentación en el laboratorio indican que las larvas de aleta amarilla se alimentan selectivamente, pero retienen la capacidad de alimentarse con un amplio rango de tamaños de presas, atributo adaptivo para el desarrollo en aguas oceánicas en las que las condiciones de alimentación pueden variar considerablemente. Las larvas de aleta amarilla son activas mientras buscan presas, e inician la alimentación bajo constreñimientos metabólicos elevados. A medida que crecen las larvas, están físicamente equipadas para añadir presas relativamente grandes y poco frecuentes a la dieta, y es posible que sean estas presas grandes las que más contribuyen a la nutrición y crecimiento. Nuestros datos indican que las tasas de alimentación de las larvas de aleta amarilla en primera alimentación pueden ser afectadas de forma importante por los procesos de turbulencia operando a nivel de microescala, lo cual sugiere que el éxito de alimentación de los aletas amarillos larvales depende de más que la concentración de presas solamente.

RECONOCIMIENTOS

Este estudio fue posible gracias al apoyo económico y técnico de la Overseas Fishery Cooperation Foundation (OFCF), Federation of Japan Tuna Fisheries Co-operative Associations (Japan Tuna), y Japan Sea Farming Association (JASFA). Agradecemos mucho el apoyo e interés de los individuos siguientes: Akira Suda, Tsutomu Watanabe, y Eiko Ozaki, de Japan Tuna; Akio Honma, Koji Imamura, Shigeru Matsunaga y Norihisa Ishibashi, de JASFA; y Kenichi Unno y Tokuya Kikuchi, de la OFCF. Kenji Oguri, de Japan Tuna, fue guía y anfitrión excelente para los dos primeros autores durante su visita al Japón. Agradecemos las revisiones del manuscrito realizadas por Bill Bayliff, Rick Deriso, Greg Jenkins, Bob Olson, Kurt Schaefer y Jock Young. El trabajo fue traducido al español por Nick Webb, y Guy Tapper y Christine Montez hicieron las figuras. Agradecemos también a los Directores antiguo y actual de la CIAT, James Joseph y Robin Allen, y al Científico Jefe del Programa Atún-Picudo, Rick Deriso, su apoyo de este proyecto.

LITERATURE CITED - BIBLIOGRAFIA CITADA

- Ahlstrom, E.H. 1971. Kinds and abundance of fish larvae in the eastern tropical Pacific, based on collections made on EASTROPAC I. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 69: 3-77.
- Ahlstrom, E.H. 1972. Kinds and abundance of fish larvae in the eastern tropical Pacific on the second multivessel EASTROPAC survey, and observations on the annual cycle of larval abundance. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 70: 1153-1242.
- Anonymous. 1988. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1987: 222 pp.
- Arthur, D.K. 1976. Food and feeding of larvae of three fishes occurring in the California Current, *Sardinops sagax*, *Engraulis mordax*, and *Trachurus symmetricus*. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 74: 517-530.

- Barclay, W., and S. Zeller. 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Artemia* nauplii by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. J. World Aquacult. Soc. 27: 314-322.
- Blackburn, M., R.M. Laurs, R.W. Owen, and B. Zeitzschel. 1970. Seasonal and areal changes in standing stocks of phytoplankton, zooplankton and micronekton in the eastern tropical Pacific. Mar. Biol. 7: 14-31.
- Boehlert, G.W., and B.C. Mundy. 1994. Vertical and onshore-offshore distributional patterns of tuna larvae in relation to physical habitat features. Mar. Ecol. Prog. Ser. 107: 1-13.
- Browman, H.I., and W.J. O'Brien. 1992. The ontogeny of search behaviour in the white crappie, *Pomoxis annularis*. Environ. Biol. Fish. 34: 181-195.
- Buskey, E.J., C. Coulter, and S. Strom. 1993. Locomotory patterns of microzooplankton: Potential effects on food selectivity of larval fish. Bull. Mar. Sci. 53: 29-43.
- Chisholm, L.A., and J.C. Roff. 1990. Size-weight relationships and biomass of tropical neritic copepods off Kingston, Jamaica. Mar. Biol. 106: 71-77.
- Forsbergh, E.D. 1989. The influence of some environmental variables on the apparent abundance of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, in the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 19: 429-569.
- Gauld, D.T. 1966. The swimming and feeding of planktonic copepods. In Barnes, H. (editor), Some Contemporary Studies in Marine Science. Allen and Unwin, London: 313-334.
- Gerritsen, J., and J.R. Strickler. 1977. Encounter probabilities and community structure in zooplankton: a mathematical model. J. Fish. Res. Bd. Canada 34: 73-82.
- Govoni, J.J., D.E. Hoss, and A.J. Chester. 1983. Comparative feeding of three species of larval fishes in the northern Gulf of Mexico: *Brevoortia patronus*, *Leiostomus xanthurus*, and *Micropogonias undulatus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 13: 189-199.
- Govoni, J.J., P.B. Ortner, F. Al-Yamani, and L.C. Hill. 1986. Selective feeding of spot, *Leiostomus xanthurus*, and Atlantic croaker, *Micropogonias undulatus*, larvae in the northern Gulf of Mexico. Mar. Ecol. Prog. Ser. 28: 175-183.
- Gruzov, L.N., and L.G. Alekseyeva. 1970. Weight characteristics of copepods from the equatorial Atlantic. Oceanology 10: 871-879.
- Harada, T., K. Mizuno, O. Murata, S. Miyashita, and H. Furutani. 1971. On the artificial fertilization and rearing of larvae in yellowfin tuna. Bull. Fac. Agricul. Kinki Univ. 4: 145-151.
- Harada, T., O. Murata, and S. Oda. 1980. Rearing of and morphological changes in larvae and juveniles of yellowfin tuna. Bull. Fac. Agricul. Kinki Univ. 13: 33-36.
- Hardy, A.C., and R. Bainbridge. 1954. Experimental observations on the vertical migrations of planktonic animals. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 33: 409-448.
- Haury, L.R., H. Yamazaki, and E.C. Itsweire. 1990. Effects of turbulent shear flow on zooplankton distribution. Deep-Sea Res. 37: 447-461.
- Hornick, H.T. 1989. The temporal and spatial distribution of larval tunas (Family Scombridae) and their food habits in the Florida Straits. M.S. Thesis, University of Maryland, College Park, Maryland: 204 pp.

- Houde, E.D. 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. Proc. World Maricult. Soc. 3: 83-112.
- Houde, E.D. 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. Am. Fish. Soc. Symp. 2: 17-29.
- Houde, E.D. 1989. Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 87: 471-495.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. In Lasker, R. (editor), Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries. Washington Sea Grant Program, Seattle, Washington: 33-77.
- Hunter, J.R., and C.M. Kimbrell. 1980. Early life history of Pacific mackerel, *Scomber japonicus*. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 78: 89-101.
- Jenkins, G.P., N.E. Milward, and R.F. Hartwick. 1984. Food of larvae of Spanish mackerels, genus *Scomberomorus* (Teleostei: Scombridae), in shelf waters of the Great Barrier Reef. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 35: 477-482.
- Judkins, D.C., and A. Fleminger. 1972. Comparison of foregut contents of *Sergestes similis* obtained from net collections and albacore stomachs. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 70: 217-223.
- Kaji, T., M. Tanaka, M. Oka, H. Takeuchi, S. Ohsumi, K. Teruya, and J. Hirokawa. 1999. Growth and morphological development of laboratory-reared yellowfin tuna *Thunnus albacares* larvae and early juveniles, with special emphasis on the digestive system. Fish. Sci. 65: 700-707.
- Klawe, W.L. 1963. Observations on the spawning of four species of tuna (*Neothunnus macropterus*, *Katsuwonus pelamis*, *Auxis thazard* and *Euthynnus lineatus*) in the eastern Pacific Ocean, based on the distribution of their larvae and juveniles. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 6: 447-540.
- Lang, K.L., C.B. Grimes, and R.F. Shaw. 1994. Variations in the age and growth of yellowfin tuna larvae, *Thunnus albacares*, collected about the Mississippi River plume. Environ. Biol. Fishes 39: 259-270.
- Laurence, G.C. 1976. Caloric values of some north Atlantic calanoid copepods. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 74: 218-220.
- Leis, J.M., T. Trnski, M. Harmelin-Vivien, J.P. Renon, V. Dufour, M.K. El Moudni, and R. Galzin. 1991. High concentrations of tuna larvae (Pisces: Scombridae) in near-reef waters of French Polynesia (Society and Tuamotu Islands). Bull. Mar. Sci. 48: 150-158.
- MacKenzie, B.R., and T. Kiorboe. 1995. Encounter rates and swimming behavior of pause-travel and cruise larval fish predators in calm and turbulent laboratory environments. Limnol. Oceanogr. 40: 1278-1289.
- MacKenzie, B.R., and W.C. Leggett. 1991. Quantifying the contribution of small-scale turbulence to the encounter rates between larval fish and their zooplankton prey: effects of wind and tide. Mar. Ecol. Prog. Ser. 73: 149-160.
- MacKenzie, B.R., and W.C. Leggett. 1993. Wind-based models for estimating the dissipation rates of turbulent energy in aquatic environments: empirical comparisons. Mar. Ecol. Prog. Ser. 94: 207-216.
- MacKenzie, B.R., T.J. Miller, S. Cyr, and W.C. Leggett. 1994. Evidence for a dome-shaped relationship between turbulence and larval fish ingestion rates. Limnol. Oceanogr. 39: 1790-1799.

- Margulies, D. 1993. Assessment of the nutritional condition of larval and early juvenile tuna and Spanish mackerel (Pisces: Scombridae) in the Panama Bight. *Mar. Biol.* 115: 317-330.
- Margulies, D. 1997. Development of the visual system and inferred performance capabilities of larval and early juvenile scombrids. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 30: 75-98.
- Masuma, S., N. Tezuka, K. Teruya, M. Oka, M. Kanematsu, and H. Nikaido. 1993. Maturation and spawning of reared yellowfin tunas at Yaeyama. Abstracts of the annual meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, Tokyo, Japan, April 2-5, 1993.
- Mori, K., S. Ueyanagi, and Y. Nishikawa. 1971. The development of artificially fertilized and reared larvae of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Far Seas Fish. Res. Lab., Bull.* 5: 219-232.
- Muelbert, J.H., M.R. Lewis, and D.E. Kelley. 1994. The importance of small-scale turbulence in the feeding of herring larvae. *J. Plank. Res.* 16: 927-944.
- Næss, T., M. Germain-Henry, and K.E. Naas. 1995. First feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinations of *Artemia* and wild zooplankton. *Aquaculture* 130: 235-250.
- Nishikawa, Y., M. Honma, S. Ueyanagi, and S. Kikawa. 1985. Average distribution of larvae of oceanic species of scombroid fishes, 1956-1981. *Far Seas Fish. Res. Lab., S Ser.* 12: 99 pp.
- Pearre, S. 1982. Estimating prey preference by predators: uses of various indices, and a proposal of another based on χ^2 . *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 914-923.
- Richards, W.J., and D.C. Simmons. 1971. Distribution of tuna larvae (Pisces: Scombridae) in the northwestern Gulf of Guinea and off Sierra Leone. *U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull.* 69: 555-568.
- Rothschild, B.J., and T.R. Osborn. 1988. Small-scale turbulence and plankton contact rates. *J. Plank. Res.* 10: 465-474.
- Sameoto, D.D. 1986. Influence of the biological and physical environment on the vertical distribution of mesozooplankton and micronekton in the eastern tropical Pacific. *Mar. Biol.* 93: 263-279.
- Schaefer, K.M. 1998. Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 21: 205-272.
- Shuvayev, Y.D. 1978. Movements of some planktonic copepods. *Hydrobiol. J.* 14: 32-36.
- Sundby, S., and P. Fossum. 1990. Feeding conditions of Arcto-Norwegian cod larvae compared with the Rothschild-Osborn theory on small-scale turbulence and plankton contact rates. *J. Plank. Res.* 12: 1153-1162.
- Suzuki, Z. 1994. A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western and central Pacific Ocean. *FAO Fish. Tech. Paper* 336(2): 108-137.
- Suzuki, Z., P.K. Tomlinson, and M. Honma. 1978. Population structure of Pacific yellowfin tuna. *Inter-Am. Trop. Tuna. Comm., Bull.* 17: 273-441.
- Theilacker, G.H., and K. Dorsey. 1980. Larval fish diversity, a summary of laboratory and field research. UNESCO, Int. Oceanogr. Comm. Workshop Rept. 28: 105-142.
- Theilacker, G.H., and M.F. McMaster. 1971. Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Mar. Biol.* 10: 183-188.

- Ueyanagi, S. 1969. Observations on the distribution of tuna larvae in the Indo-Pacific Ocean with emphasis on the delineation of the spawning areas of albacore, *Thunnus alalunga*. Far Seas Fish. Res. Lab., Bull. 2: 177-256.
- Uotani, I., K. Matsuzaki, Y. Makino, K. Noda, O. Inamura, and M. Horikawa. 1981. Food habits of larvae of tunas and their related species in the area northeast of Australia. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 47: 1165-1172.
- van der Meeren, T. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus L.*) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplankton. Aquaculture 93: 35-55.
- Watanabe, T., C. Kitajima, and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquacult. 34: 115-143.
- Wexler, J.B. 1993. Validation of daily growth increments and estimation of growth rates of larval and early-juvenile black skipjack, *Euthunnus lineatus*, using otoliths. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 20: 399-440.
- Wexler, J.B., D. Margulies, S. Masuma, N. Tezuka, K. Teruya, M. Oka, M. Kanematsu, and H. Nikaido. 2001. Age validation and growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae reared in the laboratory. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 22 (1): 52-91.
- Young, J.W., and T.L.O. Davis. 1990. Feeding ecology of larvae of southern bluefin, albacore and skipjack tunas (Pisces: Scombridae) in the eastern Indian Ocean. Mar. Ecol. Prog. Ser. 61: 17-29.
- Zar, H.H. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs: 718 pp.

AGE VALIDATION AND GROWTH OF YELLOWFIN TUNA, *THUNNUS ALBACARES*, LARVAE REARED IN THE LABORATORY

by

Jeanne B. Wexler, Daniel Margulies, Shukei Masuma¹, Nobuhiro Tezuka¹, Kazuhisa Teruya²,
Masakazu Oka³, Masaei Kanematsu⁴, and Hideki Nikaido⁵

ABSTRACT

Experiments designed to validate the periodicity of otolith increments and to examine growth rates of yellowfin tuna larvae were conducted at the Japan Sea-Farming Association's (JASFA) Yaeyama Experimental Station, Ishigaki Island, Japan, in September 1992. Larvae were reared from eggs spawned by captive yellowfin enclosed in a sea pen in the bay adjacent to Yaeyama Station. Results indicate that the first increment is deposited within 12 hours of hatching in the otoliths of yellowfin larvae, and subsequent growth increments are formed daily following the first 24 hours after hatching for larvae up to 16 days of age. Somatic and otolith growth rates were examined and compared for yolk-sac and first-feeding larvae reared at constant water temperatures of 26°C and 29°C. Despite the more rapid development of larvae reared at 29°C, growth rates were not significantly different between the two treatments. However, due to poor survival after the first four days, it was not possible to examine growth rates beyond the onset of first feeding, when growth differences may become more apparent. Somatic and otolith growth were also examined for larvae reared at ambient bay water temperatures during the first 24 days after hatching. Our estimates of laboratory growth rates were comparable to previously reported values for laboratory-reared yellowfin larvae of a similar age range, but were lower than growth rates reported for field-collected larvae. The discrepancy between laboratory and field growth rates may be associated with suboptimal growth conditions in the laboratory.

Key words: AGE VALIDATION, GROWTH, OTOLITHS, TEMPERATURE, *THUNNUS ALBACARES*, YELLOWFIN TUNA LARVAE AND JUVENILES

INTRODUCTION

The growth dynamics of fish larvae and juveniles may have a significant effect on recruitment success (Houde, 1987; Miller *et al.*, 1988). Recruitment variability of marine fish larvae, in contrast with freshwater larvae, may be strongly regulated by density-dependent effects on growth and mortality, because marine larvae are characterized by relatively longer larval-stage durations (Houde, 1994). Marine larvae may be more vulnerable to starvation and predation mortality especially when food resources are limited. Additionally, temperature can have a strong effect on the vital rates (*i.e.* mortality and growth rates) and energetics of larvae (Houde, 1989). Small changes in water temperature, especially at higher temperatures, may have a major influence on ingestion rates and subsequent growth rates during the larval and juvenile stages (Boehlert, 1981; Houde, 1974; Houde, 1989). Laboratory and field studies designed to examine the influence of biotic and abiotic factors on larval vital rates are necessary to obtain an understanding of the recruitment process in pelagic fishes.

¹ JASFA, Amami Station, 955-5 Hyo Setonti, Oshima-gun, Kagoshima 894-2424, Japan

² JASFA, Kamiura Station, Tuiura Kamiura, Minamikaifu-gun, Ooita 879-2602, Japan

³ OFCF, Sankaido Bldg. 9-13, Akasaka 1, Minato-ku, Tokyo 107-0052, Japan

⁴ JAFSA, Hakatajima Station, 2750 Kinoura Hakata, Ochi-gun, Ehime 794-2305, Japan

⁵ Hyogo Prefecture Sea-Farming Association, 22-1 Minamifutami Futami, Akashi, Hyogo 675-0163, Japan

Information on the early life history of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae is limited. The spawning frequency of purse-seine caught (Schaefer, 1996, 1998) and tank-reared (Bayliff, 1998) yellowfin in the eastern Pacific and pen-reared yellowfin in the western Pacific (Masuma *et al.*, 1993) is close to daily, predominantly within the sea-surface temperature range of 26° to 29°C. Yellowfin larvae have been collected during ichthyoplankton surveys in nearshore and oceanic waters when sea-surface temperatures were greater than 24°C (Ueyanagi, 1969; Mori, 1970; Lang *et al.*, 1994; Boehlert and Mundy, 1994), providing further evidence that eggs are spawned only at these warmer temperatures. Lang *et al.* (1994), who used otoliths to determine ages, estimated the growth rate of yellowfin larvae collected in the Gulf of Mexico to be 0.47 mm·d⁻¹, based on the assumption that otolith increments were formed daily. The optimum temperature range for growth was approximately 29.0° to 29.5°C.

Although temperature may be a determining factor of larval stage dynamics (Pepin, 1991), laboratory studies have not yet explored the effects of temperature on vital rates of yellowfin larvae. Harada *et al.* (1980b) examined the hatch rate of yellowfin eggs incubated at various temperatures, and found that for normally-developed larvae the hatch rate was highest for those eggs incubated between 26.4° and 27.8°C. Some growth and survival data of yellowfin larvae hatched from artificially- (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a) and naturally-fertilized eggs (Kaji *et al.*, 1999) at uncontrolled water temperatures have been reported from laboratory studies conducted in the western Pacific. In general, growth of yellowfin larvae was slow between 1 and 6 days after hatching, followed by faster growth up to 35 days in captivity (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a; Kaji, *et al.*, 1999). Most mortality occurred during the first 6 days after hatching (Mori *et al.*, 1971; Kaji, *et al.*, 1999). In this paper, we examine development, survival, and growth of yolk-sac and first-feeding yellowfin larvae in response to two controlled temperatures.

Otolith increments of field-collected larvae and juveniles have frequently been used to determine ages and estimate growth rates from size-at-age data based on the daily periodicity of increment formation (see review in Campana and Neilson, 1985). Previous to our study, the formation of daily growth increments in the otoliths of early- and late-stage larval yellowfin had not been validated. However, daily deposition rates have been validated in the otoliths of yellowfin caught in the central Pacific Ocean in the size range of 25 to 40 cm fork length (FL) (Yamanaka, 1990) and of post-recruit yellowfin of the eastern Pacific Ocean in the size range of 40 to 148 cm FL (Wild and Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995).

Many studies have also used increment width measurements to back-calculate lengths at previous ages by defining a proportional relationship between somatic length and otolith size so that individual growth rates could be estimated from a sample population (*e.g.* Methot, 1981; Penney and Evans, 1985; Crecco and Savoy, 1985; Butler, 1989; Thorrold and Williams, 1989; Laidig *et al.*, 1991). However, environmental factors that may cause variation in otolith growth are not always the same factors that influence somatic growth (Campana and Neilson, 1985; Mosegaard and Titus, 1987; Mosegaard *et al.*, 1988; Milicich and Choat, 1992; Hoff and Fuiman, 1993). Because otolith growth does not always respond to changes in somatic growth, disproportionately large otoliths may occur in slower-growing populations (Reznick *et al.*, 1989; Secor and Dean, 1989; Casselman, 1990; Wright *et al.*, 1990; Moksness, 1992; Secor and Dean, 1992), and can result in smaller back-calculated lengths than the lengths of fish sampled at age (Ricker, 1969; Campana, 1990). It is therefore necessary to investigate species-specific responses to factors that may influence otolith and somatic growth, as well as to validate the daily periodicity of otolith increments, before back-calculation procedures are applied.

The objectives of this study were: 1) to determine the timing and periodicity of increment formation in the otoliths of known-age yellowfin larvae hatched from naturally-fertilized eggs; 2) to estimate and compare survival rates, development, and somatic and otolith growth rates of yellowfin larvae reared at two temperatures within the range of those encountered in the natural environment; and, 3) to characterize the somatic and otolith growth of yellowfin larvae reared in captivity over an extended period of time to contrast laboratory growth rates with estimates of growth in the natural environment.

METHODS AND MATERIALS

Experimental procedures

Experiments were conducted at the Japan Sea-Farming Association's (JASFA) Yaeyama Experimental Station on Ishigaki Island, Okinawa Prefecture, Japan (Figure 1). JASFA personnel maintained a yellowfin broodstock of 3- and 6-year-old fish in a sea-pen 20-m in diameter by 10-m deep located in the bay adjacent to Yaeyama Station. The broodstock began spawning in May 1992 and continued to spawn almost daily through mid-October 1992 (Masuma *et al.*, 1993). On September 18, 1992, spawning occurred at 2200 hours, after which approximately 370,000 fertilized eggs were collected at the surface of the water. The sea-surface temperature in the pen was 28.4°C. The eggs were transferred to the laboratory and stocked at densities of 31 and 32 eggs·L⁻¹, respectively, in two 100-L tanks containing aerated, filtered seawater that was pumped from the bay. Water temperatures were controlled by water baths so that water temperatures were 26°C in one tank and 29°C in the other; deviations in temperature fluctuated within ±0.4°C for each tank. Approximately three hours before hatching, the eggs were randomly distributed at 13 eggs·L⁻¹ among three 30-L replicate tanks corresponding to each temperature treatment (*i.e.* three replicates at 26°C and three replicates at 29°C). Temperature-controlled water baths were used to maintain the water temperatures at 26°C and 29°C during the experiment; deviations in temperature fluctuated within ±0.9°C and ±0.6°C for each set of replicate tanks, respectively. Salinity levels, which were affected by incoming filtered seawater from the bay, ranged from 33.8 to 34.3‰. The eggs and larvae were exposed to a diel light cycle of 12 h light and 12 h dark. Fluorescent lights directly above the tanks were used to augment indirect natural light, and in combination the light measured 200-400 lux at the water's surface during daylight hours.

Food levels for first-feeding larvae were maintained at 5,000 to 6,500 rotifers·L⁻¹. The rotifers were enriched with squid oil prior to feeding. Nominal food levels were maintained by calculating the mean of two 50-mL aliquots taken twice daily. *Nannochloropsis* sp. was also added to each tank at densities of 500,000 cells·mL⁻¹ to provide visual contrast for prey selection and as an aid in metabolite reduction (Yamasaki and Hirata, 1989). Additional *Nannochloropsis* sp. was added after water changes were made to maintain similar densities of the alga in each tank. A 20-percent water change was made in each of the tanks after the first day of feeding to reduce the buildup of metabolites.

Larvae were sampled from the tanks at hatching, and thereafter at 12-hour intervals for four days, and preserved in 95-percent ethanol buffered with TRIS (tris[hydroxymethyl]-aminomethane) for otolith and growth analyses. After 24 hours, the preservative was changed. Eggs (tail-free embryo stage) and larvae at hatching were also fixed and preserved in 5-percent formalin to obtain measurement information on egg diameters and to compare average sizes at hatching for larvae from each temperature treatment. The experiment was terminated after four days because high mortality occurred for larvae in the high-temperature treatment.

A large number of larvae from the same spawn were reared at ambient bay- and laboratory-water temperatures in two 100-L circular tanks for 5 to 6 days and in a 5,000-L rectangular tank for 24 days. Larvae were stocked at approximately 10 larvae·L⁻¹ in the 100-L tanks and at 20-30 larvae·L⁻¹ in the 5,000-L tank. Tank water temperatures fluctuated between 26.4°C and 28.4°C. Light levels at the water's surface during daylight hours were 200-400 lux in the 100-L tanks, but only 75-100 lux in the 5,000-L tank. During the 3-4 days after first feeding, food levels were maintained at 5,000 to 6,000 rotifers·L⁻¹ in one of the 100-L tanks. Wild zooplankton were size-graded between 42 and 123 µm and maintained in the other 100-L tank at densities of 200 to 400 plankters·L⁻¹ (predominantly copepod nauplii). Larvae in the 5,000-L tank were fed rotifers at densities of 1,000 to 5,000·L⁻¹ for 3 to 24 days after hatching and supplemented with 100 to 300 *Artemia* nauplii·L⁻¹ between 11 and 24 days after hatching. The rotifers and *artemia* were enriched with squid oil prior to feeding. *Nannochloropsis* sp. was added to and maintained in each of the tanks at 500,000 cells·mL⁻¹. A 20-percent water change was made one day after first

feeding in the 100-L tanks. Filtered seawater with an exchange rate of 10 to 30 percent per day was maintained in the 5,000-L tank. Several of the surviving larvae were sampled at 5-, 6-, 10-, 16-, and 24 days after hatching and preserved in buffered ethanol to validate daily otolith increments and examine growth in length. Although a limited number of samples was collected beyond 6 days after hatching, the sizes of the larvae sampled were representative of the remaining survivors in the tank.

Laboratory procedures and data analyses

Lengths of all preserved specimens were measured before extracting the otoliths. Notochord lengths (NL) of larvae up to 6 days old and standard lengths (SL) of the 10- to 24-day-old larvae were measured to the nearest 0.1 mm. Lengths were not adjusted for shrinkage due to ethanol fixation and preservation. Shrinkage, on average, may be as high as 7 percent, based on estimates for non-scombrid larvae preserved in ethanol (Fowler and Smith, 1983; Kruse and Dalley, 1990; Jennings, 1991). However, because all larvae were sampled and preserved in a similar manner, it was assumed that the shrinkage would not influence the comparison of size or growth between larvae reared at different temperature treatments. Diameters of formalin-preserved eggs were measured to the nearest 0.01 mm. Sizes of formalin-preserved larvae at hatching were not adjusted for shrinkage, but based on preliminary results of measurements made before and after fixation and preservation of larvae from experiments conducted during the following month (Margulies, *et al.*, 2001), shrinkage ranged from 0 to 12 percent and was, on average, 4.6 percent (Margulies and Wexler, *pers. observ.*).

Formalin-preserved eggs and larvae were rinsed in distilled water, dried for 48 hours at 60°C, and placed in a desiccator for two days before weighing. Dried eggs were weighed to the nearest 0.1 mg. Dry weights of larvae were not used for growth analyses due to a defective microbalance.

Analysis of variance (ANOVA) and *t*-tests for unequal variances were used to test for equality of mean sizes among replicates and between temperature treatments. Measurements from replicate tanks within each treatment at each sampling interval were pooled if their means were not significantly different ($\alpha = 0.05$). The Student-Newman-Keuls (SNK) multiple range test (Zar, 1984) was used to examine differences among mean sizes. Analysis of covariance (ANCOVA) was used to compare the slopes and adjusted means of linear segments of the growth data.

Expected mean survivals (Ricker, 1975; Margulies, 1989) for larvae in each replicate tank were estimated following termination of the temperature experiment. Percentages of the number of expected survivors were arcsine transformed and comparisons between treatments were made using a *t*-test.

Otolith preparation and procedures

The sagittae and lapilli from each larva sampled were removed, cleaned with distilled water, and measured at 480x using a light microscope. The diameter along the longest axis of each otolith was measured with an ocular micrometer. For most larvae sampled, the diameters of each otolith pair were the same with the exception of otoliths from 4 larvae that were 4 days old and of larvae 10-24 days old. Differences in diameters between the left and right sagitta and lapillus and between the sagittae and lapilli were no more than 2 μm in the younger larvae and were 1-4 μm between the left and right sagitta of the older larvae. Because the difference in otolith diameters was minimal, the diameter of the otolith that displayed the most clearly visible increments was used for age validation and the growth analysis. Only the left or right sagitta of 10-24 day old larvae was used, however, because the increments were too compressed and difficult to read in the smaller-diameter lapillus.

Light microscopy (LM) at the highest magnification possible (1,440x) and scanning electron microscopy (SEM) at magnifications up to 6,000x were used to examine increments in sectioned otoliths of larvae. The otoliths were embedded in a *Castolite* resin mold and sectioned by polishing in a frontal or transverse plane until the core (initial center of growth) was reached. Several different etching compounds, concentrations, and times were attempted to enhance poorly defined increments near

the core. Concentrations and etching times of 0.03 N and 0.05 N HCl for 5 to 15 seconds and 0.05 N HNO₃ for 3 to 5 seconds provided the best preparations. After etching, the otoliths were rinsed in distilled water, followed by a bleach and distilled water rinse.

LM was also used to examine increments in whole otoliths of larvae that were 0.5 and 1 day old. Some of these otoliths were also sectioned so that the number of increments counted in whole otoliths could be verified. The small size of otoliths from larvae at hatching made it impossible to section them for LM or SEM to verify the image viewed at the surface of the whole otoliths. It was still possible to measure the otolith diameters with LM, but the lower magnifications were inadequate for discerning increments in whole otoliths from larvae at hatching.

Increments of sectioned otoliths were counted blindly (*i.e.* repeated counts were made without prior knowledge of the known age or the previous counts) by the first author from SEM photographs and directly using immersion oil with LM. Complete increments were counted in each otolith up to five times or until a minimum of three replicated counts was obtained. The number of increments counted from adequate preparations (*i.e.* preparations that were not over-polished or over-etched) was used to determine the rate of increment formation using regression analysis.

RESULTS

Development

At 26°C, the majority of the eggs hatched within 22 hours after fertilization (from 1900 to 2000 hours), and yolk absorption and first feeding occurred approximately 60 hours after hatching. The majority of the eggs held at 29°C hatched within 19 hours after fertilization (from 1600 to 1700 hours), and yolk absorption and first feeding occurred approximately 50 hours after hatching.

Survival

At the end of the fourth day of the experiment, nearly all of the larvae from the 29°C temperature treatment had died. None of the larvae had survived in two of the three replicate tanks, so the expected survival could not be calculated. The expected survival in the third tank was estimated to be only 1.6 percent. Many survivors remained in two of the three replicate tanks of the 26°C treatment, and the expected survivals in those tanks were estimated at 16.5 and 53.4 percent. High mortality occurred in the third replicate tank at 26°C, with the expected survival estimated at 3.4 percent. The single, arcsine-transformed percent survival of the high-temperature treatment (7.27) was compared with both the mean of the three low-temperature values (mean = 27.18, SD = 18.37) and the mean of only the two higher low-temperature values (mean = 35.46, SD = 16.25). Although neither comparison was statistically significant ($t_{0.05(2),2} = 0.939$, $P > 0.20$ and $t_{0.05(2),1} = 1.42$, $P > 0.20$, respectively), a higher mortality was apparent for larvae of the 29°C treatment.

Effects of fixation and preservation

The size of yellowfin eggs was not affected by fixation and preservation in formalin, based on measurements made before and after fixation and preservation of yellowfin eggs from experiments conducted during the following month (Margulies and Wexler, *pers. observ.*). Egg diameters just prior to hatching ranged from 0.93 to 1.0 mm (mean \pm 1 SD = 0.95 mm \pm 0.02). The mean dry weight of the formalin-preserved eggs was 36.3 mg (SD = 1.4), and ranged from 32.8 to 38.2 mg.

Age validation

In general, the otoliths of the laboratory-reared yellowfin larvae (3 to 24 days of age) were approximately half the size of those from field-collected scombrid larvae of a similar age range (*e.g.*

Lang, 1991; Wexler, 1993). The smaller size and faint increment structure of the otoliths from laboratory-reared specimens made embedding and etching procedures difficult and resulted in limited sample sizes for each time interval examined (Table 1). Increments were counted in 75 percent of the otoliths prepared for examination. In the other 25 percent, increments were poorly defined and could not be counted. Sectioning and etching the otoliths with poorly-defined increments did little to enhance increment definition, and in most cases they were destroyed during the procedure. One sagitta of a 10-day-old larva also possessed an accessory primordium with increments surrounding both core regions. This has never been described in otoliths of field-collected scombrid larvae.

For both temperature treatments, the first increment was completely formed in the otoliths within 12 hours of hatching (Figure 2; Table 1). Subsequent increments were completely formed by early morning following the first 24 hours of hatching for larvae up to 16 days of age (*i.e.* the second increment was completely formed at 36 hours after hatching, the third increment at 60 hours, etc.). The relationship between the number of increments and time after the first 24 hours of hatching was described by the equation

$$I = 0.06 + 0.98 d$$

$$(r^2 = 0.99; n = 26),$$

where I = number of increments and d = age in days. The slope of the regression equation of 0.98 (SD = 0.01) was not significantly different from 1 ($t_{0.05(24)} = 1.96, P > 0.05$). The numbers of increments counted in the otoliths of larvae that were 24 days old, however, underestimated ages by 1 to 4 days (Table 1). Finely-spaced increments that were only 0.3 μm wide near the core of these otoliths could be detected only with the SEM (Figures 3-4). The relationship becomes $I = 0.33 + 0.92 d$ when 24-day-old larvae were included in the regression. The deposition rate of 0.92 (SD = 0.02) increments per day is significantly less than 1 ($t_{0.05(27)} = 5.41, P < 0.001$).

Growth

Yolk-sac and first-feeding larvae

The mean lengths of formalin-preserved larvae at hatching were 2.28 mm (SD = 0.107) from the 26°C treatment and 2.45 mm (SD = 0.114) from the 29°C treatment. The mean lengths were significantly different (ANOVA, $F_{0.05(1),1,58} = 35.5, P = 0.000$).

The mean length of formalin-preserved larvae hatched from eggs spawned at 26.5°C in October and incubated between 26° and 26.9°C (mean = 2.51 mm, SD = 0.107) (Margulies *et al.*, 2001) was also compared with those from the two temperature treatments. The three means were significantly different (ANOVA, $F_{0.05(1),2,86} = 37.86, P < 0.0001$; SNK, $P < 0.05$). The mean length of larvae from the 26°C treatment was smaller than that of larvae from the 29°C treatment and of larvae from the October spawn.

For the ethanol-preserved larvae, it was not possible to pool measurements from replicate tanks for many of the sampling intervals because their means were significantly different (Table 2). In some cases only data from two of the three replicates were used because the larvae sampled from the other replicate tank appeared to have been moribund at the time of sampling. It was possible to compare the means of pooled lengths between treatments for larvae sampled at and beyond first feeding (*i.e.* 2 to 4 days after hatching). Despite the smaller mean length at hatching of larvae reared at 26°C, the mean length just prior to first feeding (2 days after hatching) was significantly greater than that at the higher temperature ($P < 0.002$). The mean lengths of pooled data from each temperature treatment were not significantly different at and beyond first feeding (from 2.5 to 4 days after hatching) ($P > 0.60$).

Linear models could not be applied to all of the size-at-age data for comparisons of somatic and otolith growth rates because the range of the data was limited and the variance was not homogenous within each of the treatments either before or after transformation. Therefore, linear portions of the

data from each temperature treatment (*i.e.* 0.5 to 4.0 days after hatching), using the mean size at age from each replicate tank, were compared.

For both treatments, the length of the yolk-sac larvae increased by approximately 1.0 mm within 12 hours after hatching. Growth was very slow and linear up to 4.0 days after hatching or 1.5 to 2 days after first feeding (Figure 5). The growth relationships between NL and days after hatching (*d*) for larvae of the low- and high-temperature treatments were described by the equations

$$NL = 3.16 + 0.09 d \ (r^2 = 0.44; n = 23)$$

and

$$NL = 3.23 + 0.04 d \ (r^2 = 0.07; n = 20)$$

respectively. The slope for the high-temperature treatment was not significantly different from zero ($P > 0.10$) but was for the low-temperature treatment ($P < 0.001$). Regardless, the growth rates estimated by the slopes of the linear models for larvae in the low- ($0.09 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$, $SD = 0.02$) and high-temperature treatments ($0.04 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$, $SD = 0.03$) were not significantly different (ANCOVA, $F_{0.05(1),1.45} = 0.21$, $P > 0.60$), nor were the adjusted means ($F_{0.05(1),1.45} = 0.0001$, $P > 0.90$). The common regression coefficient and the growth rate of the pooled data were $0.07 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ($SD = 0.02$) (Figure 5).

The mean pooled otolith diameters at each sampling interval were compared between temperature treatments (Table 2) and were not significantly different ($P > 0.10$). Linear models ($P < 0.0001$) were fitted to the mean otolith size-at-age data for each replicate in each temperature group between 0.5 and 4.0 days after hatching and there was no significant lack of fit for either model based on repeated measurements at age ($P > 0.05$). The growth rates were $1.99 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ($SD = 0.13$) and $2.13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ($SD = 0.14$) for otoliths of larvae in the 26°C and 29°C treatments, respectively. The growth rates and adjusted means were not significantly different between the treatments (ANCOVA, $P > 0.30$), and the common regression coefficient was $2.05 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$. The shape of the otolith growth curve was more apparent, however, when all of the data were pooled, and was better described by a power function (Figure 6).

The growth trajectory of the relationship between fish length and otolith size was difficult to determine because of the large variance in lengths at age for the short time interval examined (*i.e.* 4 days) (Figure 7). Notochord length varied by ± 0.05 to 0.22 mm SD for a given otolith diameter. It was not possible to adequately fit growth models to the data for each temperature treatment, so comparisons by temperature of the somatic-otolith growth relationships were not made. Furthermore, this type of comparison would be of little importance, considering that growth rates were similar between both temperature treatments.

The mean sizes at 5 days after hatching (3 days of feeding) was also compared between larvae fed an exclusive diet of wild zooplankters and those fed only rotifers. The mean sizes of wild zooplankton- and rotifer-fed larvae were 3.42 mm ($SD = 0.13$) and 3.59 mm ($SD = 0.24$), respectively, and were not significantly different (ANOVA, $F_{0.05(1),1.18} = 4.29$, $P > 0.05$).

Early- and late-stage larvae

Measurement data of larvae from the temperature experiment were pooled with the data of the older larvae reared at ambient bay water temperatures, so that growth over the extended range of ages could be examined. Although specimens of the older larvae were limited, three linear growth stanzas were used to describe the length-at-age data for all early- and late-stage larvae between 0.5 and 24.0 days of age (Figure 7), because the distribution of the data was not continuous beyond 6 days of age and non-linear models, such as the Richards and Gompertz functions, did not fit the data well. Linear segments and points of intersection were determined by fitting straight lines to various segments of the data, testing for significant pure error lack of fit, and examining the residuals for deviations from normality. It was then decided to force the three lines to intersect at ages 5 and 16 days (Figure 7; Table 3). The regression equation of the first growth stanza, fitted without constraints, was used to constrain the esti-

mation of the parameters of the second stanza by predicting the size at age 5, subtracting that size from sizes within the second growth stanza, subtracting age 5 from the ages within the second growth stanza, and regressing the adjusted sizes on adjusted ages, without an intercept term, to estimate the slope of the second line. The intercept of the second line was then calculated based on the estimated slope and the predicted size at age 5. Parameters of the third segment were estimated in the same manner using the regression equation from data of the second growth stanza but using the predicted size at age 16. The variance estimates of the parameters for each constrained, linear segment were determined by 5,000 bootstrap estimates (Efron, 1982; Efron and Tibshirani, 1993) (Table 3). Bootstrapping was done by resampling, with replacement, within each distribution for a given age. The average parameter values obtained from the 5,000 bootstrap estimates (Table 3) were similar to parameters estimated by linear regression, and the 5,000 estimates were reasonably and normally distributed.

Growth rates of early- and late-stage larvae were determined by the slopes estimated for each of the three growth stanzas (Table 3). Larval growth in length was slow and linear from 0.5 to 5.0 days of hatching, with a growth rate of $0.07 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ (SD = 0.01). Larvae that were 6 to 16 days old grew more rapidly, and growth was linear at a rate of $0.27 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ (SD = 0.01). Little or no growth occurred between 16 and 24 days (*i.e.* the regression was not significant and the slope was not significantly different from 0 ($P>0.25$)), and few survivors remained.

Otolith growth for the extended range of data was characterized by a two-stage growth model (Figure 8; Table 4). The point of intersection at 6 days and the regression parameters were estimated in a similar manner to that mentioned previously for the length-at-age data, except that the first stage from 0.5 to 6.0 days of age was non-linear and best described by a power function. Between 6.0 and 24.0 days, otolith growth increased linearly at a rate of $3.4 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ (SD = 0.47), despite the slowing of somatic growth in length between 16 and 24 days of age (Figure 7). The average parameter values obtained from 5,000 bootstrap estimates were similar to parameters estimated by the regression models (Table 4).

DISCUSSION

Otolith growth increments

Knowledge of the time when the first increment is formed in otoliths and the rate at which increments are deposited is essential for accurate age determination and for back-calculating estimates of body sizes at previous ages. We were able to determine that the first increment forms in yellowfin otoliths within 12 hours of hatching and that subsequent increments form daily during the first 16 days after hatching. Because hatching of yellowfin larvae occurred between 1600 and 2000 hours, the first increment was either already formed at hatching or was forming until the onset of daylight the following morning (approximately 12 hours later). Subsequent increments were apparently formed within 24-hour intervals indicating a circadian rhythm that may be determined by photoperiod (review in Campana and Neilson, 1985). Daily increments have been validated in only two other species of scombrids during early development. Daily increments were validated in the otoliths of skipjack, *Katsuwonus pelamis*, larvae during the first 5 days after hatching, but the first increment did not form until one day after hatching (Radtke, 1983). Wexler (1993) documented daily deposition rates in the otoliths of postflexion and early-juvenile black skipjack, *Euthynnus lineatus*. In known-age black skipjack larvae reared from hatching, the first increment in the otoliths was completely formed at hatching, and subsequent increments were completely formed each morning following the first 24 hours of hatching (Bayliff, 1997). It has been suggested that tropical tuna species with similar early-developmental patterns may exhibit similar incremental patterns in their otoliths (Brothers *et al.*, 1983). Early development of tunas, in general, is characterized by short stage durations during the embryonic and larval phases; exogenous feeding occurs 2-3 days after hatching when the eyes are completely pigmented and

the mouths are fully functional (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Ueyanagi *et al.*, 1973; Inoue *et al.*, 1974; Margulies *et al.*, 2001). Although otolith increments are deposited daily after the first day of hatching for the scombrid species studied, the time when the first increment forms is variable. This demonstrates the need for establishing species-specific characteristics of otolith growth for otolith analyses to be applied accurately.

The increment deposition rate of yellowfin larvae was significantly less than one per day when counts for 24-day old larvae were included in the analysis. Daily increment growth may have been interrupted, but it seems more likely that some of the finely-spaced increments were not detected in the core region of the otoliths. The polishing and etching process can easily destroy increments in this poorly-defined region (Figure 3) of the otolith. Faint and narrow increments are more commonly observed in laboratory-reared larvae than in field-collected specimens (Bailey, 1982; Tsuji and Aoyama, 1982; Campana *et al.*, 1987; Jones and Brothers, 1987; Jenkins *et al.*, 1993; Kingsford and Atkinson, 1994), which suggests suboptimal rearing conditions in the laboratory environment. Daily deposition rates probably do occur for larvae up to 24 days of age, both in the laboratory and in nature, but further laboratory studies are needed to validate this. Given that increments are formed daily in tetracycline-marked and recaptured post-recruit yellowfin in the pelagic environment (Wild and Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995), the increment deposition rates for larvae up to 16 days of age observed in this study are probably indicative of similar deposition rates for larvae in the wild.

Several studies have demonstrated that fish growth is strongly associated with otolith increment spacing (*e.g.* Wilson and Larkin, 1982; Volk *et al.*, 1984; Govoni *et al.*, 1985; Bailey and Stehr, 1988). Typically, finely-spaced increments, which often cannot be resolved with light microscopy, are observed in slow-growing larvae (*e.g.* Bailey and Stehr, 1988; Butler *et al.*, 1995). The slow growth observed in yellowfin larvae during the first 5 days after hatching in our experiment was also reflected in narrow increment spacing near the core region of the otoliths but not at the outer margin of 16-24 day old larvae when a slowing of somatic growth also occurred (Figures 3-4 and 7). Differential response periods of otolith and somatic growth (Figures 7-8) may result when the metabolism of stored energy reserves is used to maintain limited hard-tissue growth during periods of starvation (Marshall and Parker, 1982; Neilson and Geen, 1985). The general appearance of the older larvae in our study indicated that they were in poor condition; thus, malnourishment may, in part, be responsible for the dissociation in somatic and otolith growth. However, the data for older larvae in our study are too limited to make inferences at this time and further experiments need to examine the relationship between otolith and somatic growth more closely at an individual and daily level. Regardless, our results may still suggest that otolith growth is only partially correlated with somatic growth, and may not correspond to short-term changes in fish growth associated with environmental or stage-specific changes (Bradford and Geen, 1992; Milicich and Choat, 1992; Gallego and Heath, 1997).

Temperature effects on development, survival, and growth

Most of the fertilized eggs in our experiment developed normally at both temperature treatments, despite poor survival of the larvae at first feeding. The sizes of the eggs (0.93-1.00 mm diameter) lie within the reported size ranges for yellowfin eggs (0.90-1.04 mm) reared in other laboratory experiments (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a; Harada *et al.*, 1980b), and for other members of the tribe Thunnini (0.84-1.23 mm) from the Pacific Ocean (Ambrose, 1996).

Larval size at hatching is determined by egg size (Blaxter, 1969) and the efficiency of yolk utilization, which can be influenced by temperature (Theilacker and Dorsey, 1980). In our experiment, the larvae at hatching from the low-temperature treatment were significantly smaller than those from the high-temperature treatment and from eggs spawned in October and incubated within a comparable low-temperature range. The eggs from our low-temperature treatment experienced as much as a 2.6°C temperature decrease when they were moved shortly after spawning from a water temperature of 28.4°C to

a controlled, lower water temperature regime in the laboratory. The sudden change in temperature during incubation may have affected the rate at which yolk was used for metabolic requirements and the rate at which yolk was converted to larval tissue (Blaxter and Hempel, 1966; Alderdice and Velsen, 1971; Howell and Caldwell, 1984), resulting in the smaller size at hatching. However, confirmation would require further experiments, and additional measurements of growth, especially dry-weight information. Ecologically, the difference in size at hatching is probably not important, considering that the average sizes of larvae at first feeding (at yolk-sac absorption) were not significantly different between the two temperature treatments.

In general, survival of the first-feeding larvae was poor. The eggs and larvae used in this and the following experiment (Margulies, *et al.*, 2001) were spawned near the end of the spawning season, and may have been less viable than those spawned earlier in the season (S. Masuma, *pers. observ.*). Larvae reared at 26°C probably utilized their endogenous energy reserves more slowly and fed under lower metabolic constraints than those at the higher temperature, resulting in higher, although not significantly higher, survival estimates for the short duration of the experiment. There was no evidence to suggest that a diet of unnatural prey items (*i.e.* rotifers) during first feeding or the small size of the rearing tank (Geffen, 1995) resulted in poor survival or slower growth. Similar survival and growth estimates were obtained (Margulies, *et al.*, 2001; Margulies and Wexler, *pers. observ.*) for larvae reared in larger 300-L tanks and fed a diet of wild zooplankters (predominantly copepod nauplii) during a food selectivity experiment conducted the following month (Margulies, *et al.*, 2001). Furthermore, when larvae in our study were fed different prey types, the mean size of larvae fed a natural zooplankton diet was similar to that of larvae fed an artificial diet of rotifers after the first 3 days of feeding.

Despite the more rapid development of larvae at the 29°C treatment, somatic and otolith growth rates of ethanol-preserved larvae were not significantly different between temperature treatments. Growth in length was slow for both treatments during the first four days after hatching. Lang *et al.*, (1994), however, reported that somatic growth rates of yellowfin larvae were significantly affected by temperature even within a narrow range of field temperatures (28.5° to 30.4°C), the optimum temperature for growth being about 29.4°C. At high, optimum food levels, we would have also expected a difference in growth rates between larvae reared at the different temperature treatments, but a difference may not have occurred until several days after feeding. Temperature effects on growth of Pacific mackerel (*Scomber japonicus*) between 16.8° and 22.1°C (Hunter and Kimbrell, 1980) and white perch (*Morone americana*) larvae between 13° and 21°C (Margulies, 1989) were also not distinguishable during the first several days of feeding until approximately 10 days after hatching. Increases in length or weight may not be apparent in fish larvae until stored energy reserves are completely exhausted and energetic demands become greater; faster growth may then be attained through the increased food consumption required at higher temperatures (Houde, 1989). Dry weights rather than length measurements may be a better indicator of growth during first-feeding and metamorphosis because growth in length provides no information on the condition of the larvae (Blaxter, 1969). Regardless, average lengths and dry weights of red drum, *Sciaenops ocellatus*, larvae (Lee *et al.*, 1984) incubated and reared at different temperatures were similar until several days after the onset of active feeding. Temperature differences in growth rates of yellowfin larvae may have similarly occurred beyond 4 days of hatching (after the first 2-2.5 days of feeding), but this was not possible to examine due to the short duration of the experiment.

Before individual growth histories of field-collected larvae can be estimated from increment width measurements, the response of otolith growth to changes in somatic growth needs to be validated at a daily level. In our study, however, a short-term response of otolith and somatic growth rates to different temperatures was not detected. The growth rates of larvae in each temperature treatment were similar over the limited age range examined. Average otolith diameters and growth rates were also not significantly different between treatments (Table 2). It would therefore be futile to attempt to validate the increase or decrease in increment-width spacings in response to differences in somatic growth

when the growth rates were not significantly different. It has been suggested that metabolic processes in response to temperature control otolith growth and the pattern of increment spacing (Mosegaard and Titus, 1987; Mosegaard *et al.*, 1988; Bradford and Geen, 1992; Hoff and Fuiman, 1993), but this was not apparent in our study. Further experiments with feeding larvae that incorporate different temperature regimes need to be conducted over a longer time interval to examine otolith growth in response to changes in somatic growth.

Larval and late-larval growth

The somatic growth rates obtained in this study were similar to those of yellowfin larvae reared in other laboratory experiments. In our study, the fastest growth rate of $0.27 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ was comparable to growth rates obtained for larvae of a similar age reared in the laboratory by Harada *et al.* (1971) (ca. $0.31 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$) and Mori *et al.* (1971) (ca. $0.30 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$). These rates, however, are less than the growth rate of $0.47 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ estimated for field-sampled yellowfin larvae within a similar age range (Lang *et al.*, 1994). Suboptimal growth in the laboratory was indicated by our observations of malnourishment and the smaller size of late-stage larvae compared to field-collected scombrids of a similar age range (Jenkins and Davis, 1990; Wexler, 1993; Lang *et al.*, 1994). The poor survival, poor condition, and slower growth during this period of development in the laboratory may be associated with the feeding of unnatural and/or limited types of prey items (Taniguchi, 1982; Margulies *et al.*, 2001), with inadequate physical conditions such as tank size or type, and light and oxygen levels (Theilacker and Dorsey, 1980; Hales and Able, 1995; Geffen, 1995; Henny *et al.*, 1995), or an abnormally high larval stocking density which may have led to poor conversion rates of food items (Blaxter, 1975). Typically, scombrid larvae feed on microzooplankton during early larval stages and become piscivorous and cannibalistic during the post-flexion and early-juvenile stages (Mayo, 1973; Hunter and Kimbrell, 1980; Jenkins *et al.*, 1984; Finucane, *et al.*, 1990; Olson and Scholey, 1990; Young and Davis, 1990; Margulies, 1993; Wexler, 1993); therefore, a zooplankton and piscivorous diet may provide more of a growth advantage during laboratory rearing than would unnatural cultured food items. Post-flexion- and transformation-stage yellowfin larvae hatched in the laboratory have responded with exponential growth in length when a diet of fish larvae was introduced at about 15 days after hatching (Kaji *et al.*, 1999; IATTC, *unpublished data*). A slower growth rate in the laboratory may also be related to the absence of predation mortality, which would allow the slowest-growing individuals to survive. A larger variance in the size at age of reared larvae compared to wild larvae would suggest that predation mortality was higher for larvae in nature (Kingsford and Atkinson, 1994). However, in our study, the variation in length at age was less than that for yellowfin larvae collected in the field (Lang *et al.*, 1994). The smaller variation in size of larvae from our study is probably associated with the high mortality rate and an inadequate food source. Although the samples of larvae were limited from 10-24 days of age, the size of the larvae sampled was representative of the remaining survivors in the tank. While we are not ruling out the possibility that slower growth in reared yellowfin larvae may be associated with the absence of predation, the slower growth we observed probably reflects suboptimal growth conditions in the laboratory.

Tropical tunas exhibit the potential for variable growth rates during the larval and early-juvenile stages, considering the rapid development rates that occur and the high ingestion rates required to survive in warm oceanic and coastal waters (*e.g.* Jenkins *et al.*, 1991; Wexler 1993; Lang *et al.*, 1994). Growth rates of yellowfin larvae in the Pacific Ocean may be highly variable, considering that many of the tropical and subtropical regions where significant numbers of yellowfin larvae have been collected (Klawe, 1963; Suzuki *et al.*, 1978; Leis *et al.*, 1991; Boehlert and Mundy, 1994) are characterized by seasonally variable and fairly productive waters (Blackburn *et al.*, 1970; Owen and Zeitzschel, 1970; Fiedler *et al.*, 1991). Spawning of yellowfin occurs year-round and almost daily throughout areas of the eastern Pacific Ocean (and possibly throughout the entire Pacific Ocean), where sea surface temperatures are

greater than 26°C (Bayliff, 1994; Schaefer, 1996). Despite high fecundity rates of yellowfin (Joseph, 1963; McPherson, 1991; Schaefer, 1996), larval mortality rates are also very high (Lang *et al.*, 1994). Patch dynamics and larval encounter rates of abundant prey organisms (Margulies *et al.*, 2001) could be significant factors limiting growth and survival of yellowfin larvae in the Pacific Ocean. Small-scale sampling of microplankton (Owen, 1981; Jenkins, 1988; Owen, 1989) in the feeding environment of yellowfin larvae may provide essential information on the distribution and patch dynamics of important prey items. In addition, *in situ* and laboratory measurements of growth variability, size-selective mortality, feeding incidence, and the dynamics of physical processes may provide some insight into the mechanisms that cause high mortality rates in larval yellowfin tuna.

In summary, results from this study represent the first confirmation of daily increment formation in the otoliths of yellowfin tuna larvae during the first 16 days after hatching. Daily increments in the otoliths of yellowfin have now been validated during early life stages and in the size range of 25 to 148 cm FL (Wild and Foreman, 1980; Yamanaka, 1990; Wild *et al.*, 1995). Validation over this extended range of sizes provides the baseline information necessary for determining ages and growth rates of pre- and post-recruit yellowfin. Additional confirmation of daily deposition rates in the otoliths of larvae and juveniles between 16 days of age and 25 cm FL would permit reliable estimates of ages for any fish up to 148 cm in length. Despite faster development times for eggs and larvae reared at 29°C, differences in growth rates of yellowfin larvae or their otoliths during the yolk-sac stage and the onset of first feeding were not detected within the temperature range examined. Growth differences may be more apparent beyond the onset of first feeding and the effects of temperature on growth beyond this period need to be explored. Additionally, validation of otolith growth in response to changes in somatic growth should be addressed at an individual level before back-calculation procedures are applied. Our study provides an initial examination of larval yellowfin growth in response to controlled temperature regimes, and establishes a baseline for continued research on factors affecting growth variability and survival of larval yellowfin tuna.

ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge the Overseas Fishery Cooperation Foundation and the Federation of Japan Tuna Fisheries Co-operative Associations for making this collaborative research possible with special funding. A. Suda (Japan Tuna) and N. Ishibashi (JASFA) were especially supportive and helpful toward our research objectives. We would also like to express our thanks to the JASFA technical staff. J. Butler and K. Dahlin provided valuable suggestions in the preparation of micro-otoliths and the use of their equipment. K. Dahlin also provided technical support with SEM operation. Helpful discussions with A. Wild, K. Schaefer, and P. Tomlinson are appreciated. P. Tomlinson provided statistical advice and FORTRAN programs for bootstrap estimates. Critical and helpful reviews of the paper were made by B. Bayliff, G. Boehlert, T. Davis, R. Deriso, R. Olson, K. Schaefer, and P. Tomlinson. The manuscript was translated into Spanish by N. Webb, and G. Tapper produced Figure 1. We would also like to express our gratitude to the former and present IATTC Directors, J. Joseph and R. Allen, and the Chief Scientist of the Tuna-Billfish Program, R. Deriso, for their support of this collaborative research.

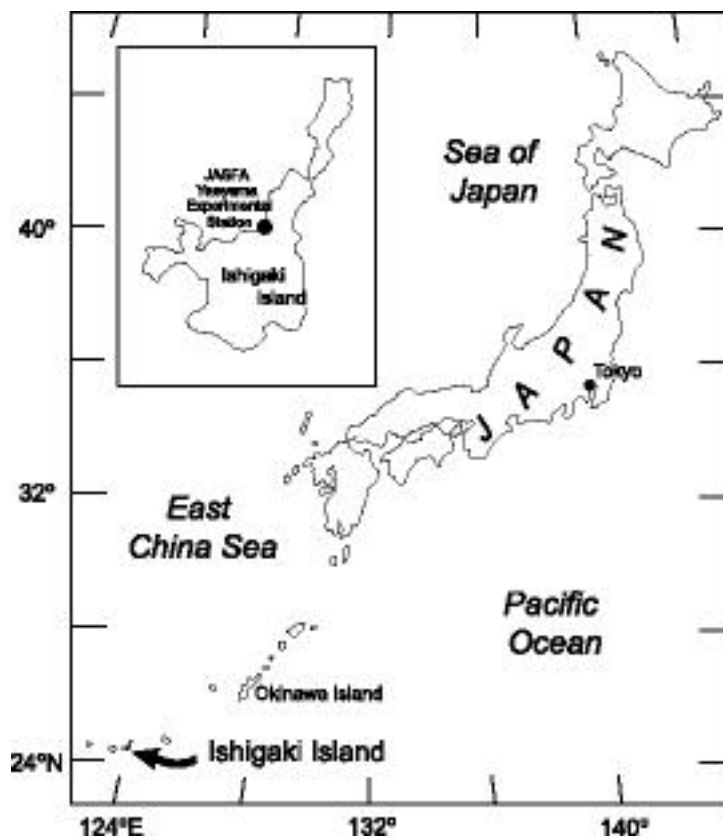


FIGURE 1. Location of Ishigaki Island and JASFA's Yaeyama Experimental Station.

FIGURA 1. Situación de la Isla Ishigaki y a Estación Experimental Yaeyama de la JASFA.

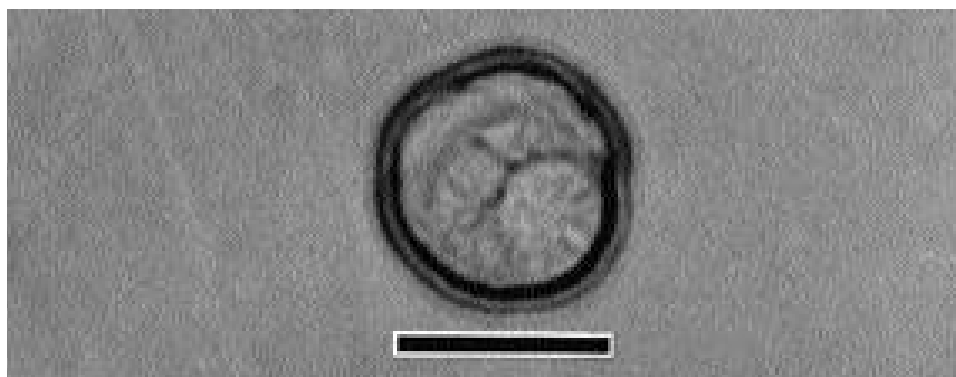


FIGURE 2. Photomicrograph of a sectioned sagitta otolith of a 12-hour old yellowfin larva showing completion of the first increment. Scale bar represents 10 μm .

FIGURA 2. Fotomicrografía de una ságita de otolito seccionada de larva de aleta amarilla de 12 horas de edad, ilustrando el primer incremento. La barra de escala representa 10 μm .

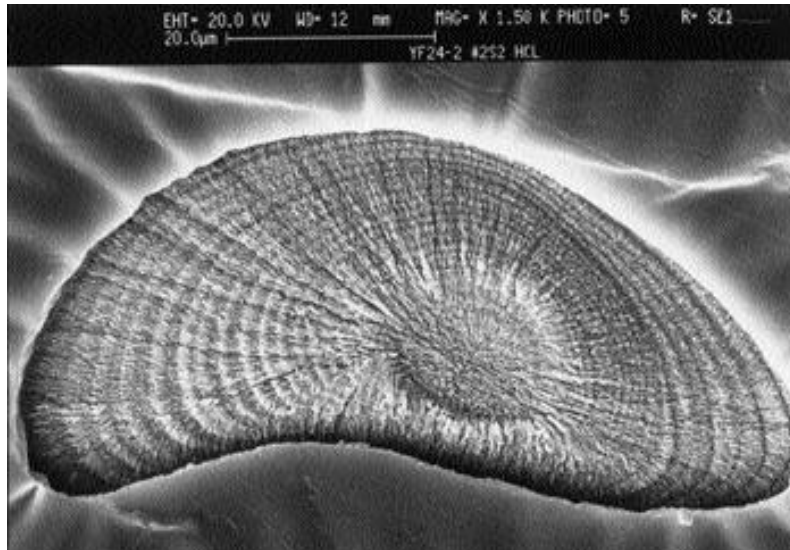


FIGURE 3. Scanning electron micrograph of a sectioned sagitta otolith from a 24-day-old yellowfin larva.

FIGURA 3. Micrografía electrónica de barrida de una ságita de otolito seccionada de larva de aleta amarilla de 24 días de edad.

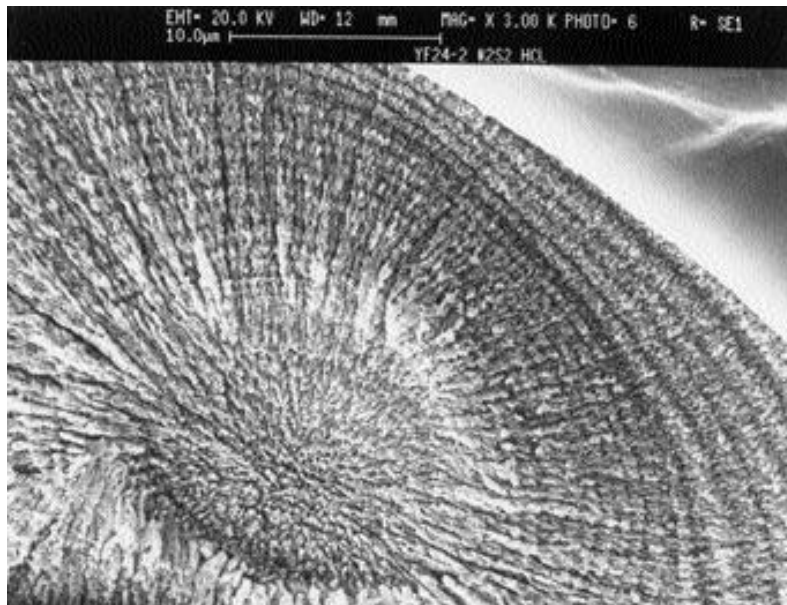


FIGURE 4. Scanning electron micrograph of the finely-spaced increments in the core region of the sagitta section in Figure 3.

FIGURA 4. Micrografía electrónica de barrida de los incrementos muy juntos en la región núcleo de la sección de ságita en la Figura 3.

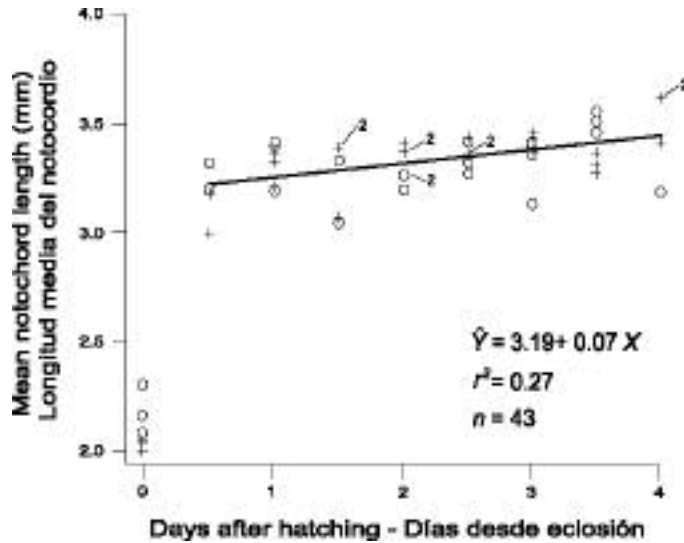


FIGURE 5. Linear regression of mean notochord lengths (NL) and age (d) of yellowfin larvae reared in replicate tanks at 26°C (+) and 29°C (o). The regression equation does not include data at hatching.
FIGURA 5. Regresión lineal de talla de notocordio (NL) media y edad (d) de larvas de aleta amarilla criadas en tanques replicados a 26°C (+) y 29°C (o). La ecuación de regresión no incluye datos de eclosión.

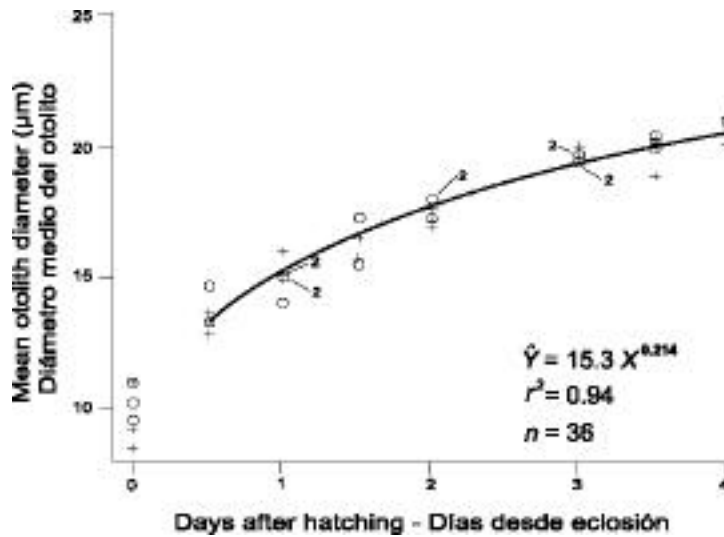


FIGURE 6. Mean otolith diameter (OD) versus age (d) of yellowfin larvae reared in replicate tanks at 26°C (+) and 29°C (o). The curve was fitted to the data, excluding sizes at hatching, by least-squares regression.
FIGURA 6. Diámetro medio del otolito (OD) versus edad (d) de larvas de aleta amarilla criadas en tanques replicados a 26°C (+) y 29°C (o). La curva fue ajustada a los datos, excluyendo los tamaños de eclosión, mediante una regresión de cuadrados mínimos.

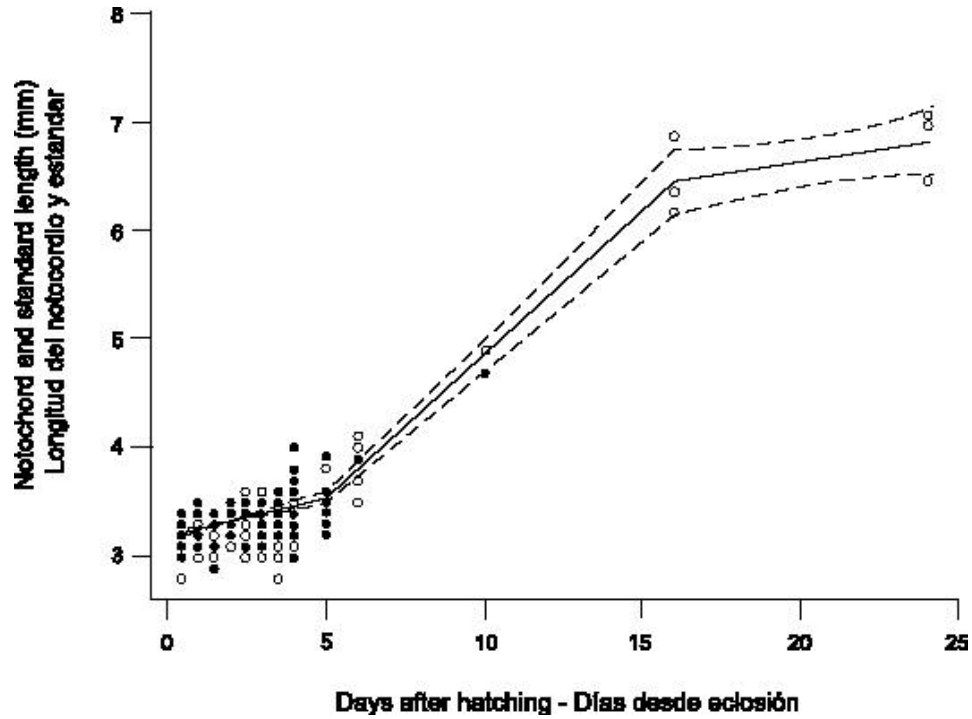


FIGURE 7. Linear growth stanzas of early- and late-stage yellowfin larvae reared in the laboratory. Multiple data points are represented by solid circles. The regression lines and the 95% confidence intervals for the expected y values given x (± 2 SD) are shown and were determined by a constrained fitting procedure and 5,000 bootstrap estimates (see text). Estimated parameters for each growth stanza are listed in Table 3.

FIGURA 7. Escalones de crecimiento lineal de larvas de aleta amarilla de etapa temprana y tardía criadas en el laboratorio. Los círculos sólidos representan puntos de datos múltiples. Se ilustran las líneas de regresión y los intervalos de confianza de 95% para los valores y esperados de un x dado (± 2 DE), determinados con un procedimiento de ajuste constreñido y 5.000 estimaciones de *bootstrap* (ver texto). En la Tabla 3 se detallan los parámetros estimados para cada escalón de crecimiento.

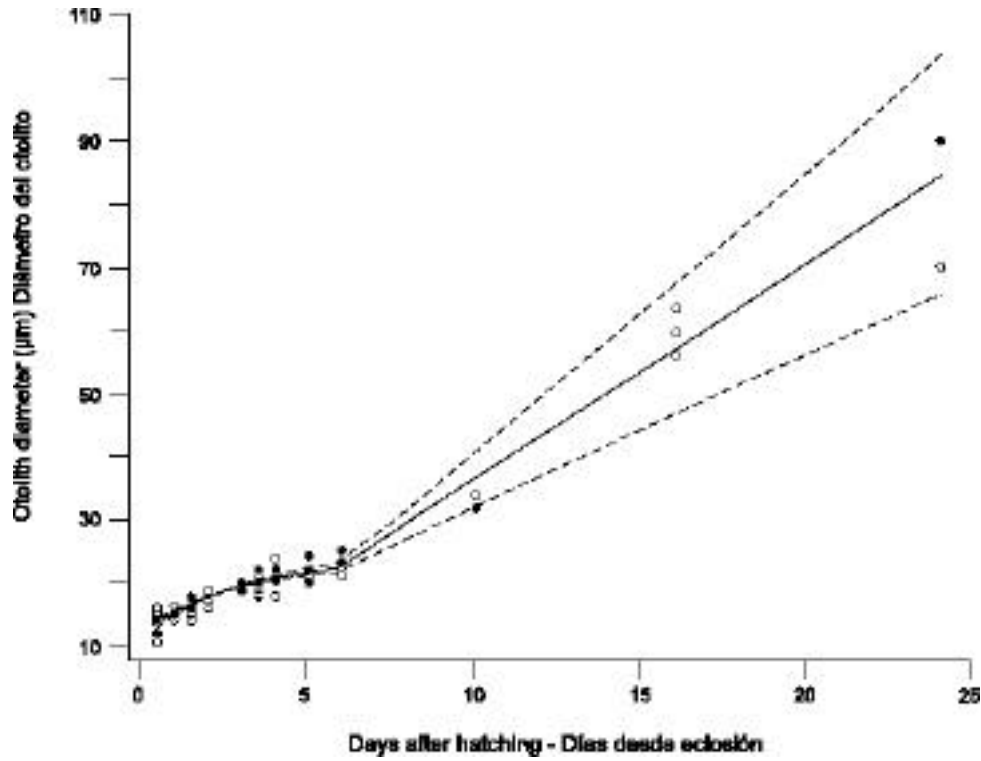


FIGURE 8. Two-stage model of otolith growth of yellowfin larvae reared in the laboratory. Multiple data points are represented by solid circles. Data from early- and late-stage larvae were fitted by a power function and linear model, respectively, using a constrained fitting procedure (see text). The 95% confidence intervals shown for the expected y values given x (± 2 SD) were determined by 5,000 bootstrap estimates (see text). Parameters for the two-stage model are listed in Table 4.

FIGURA 8. Modelo de dos etapas del crecimiento de los otolitos de larvas de aleta amarilla criadas en el laboratorio. Los círculos sólidos representan puntos de datos múltiples. Se ajustaron los datos de larvas de etapa temprana y tardía con una función de potencia y un modelo lineal, respectivamente, mediante un procedimiento de ajuste constreñido (ver texto). Los intervalos de confianza de 95% ilustrados para los valores esperados de y asignados a x (± 2 DE) fueron determinados mediante 5,000 estimaciones de *bootstrap* (ver texto). En la Tabla 4 se detallan los parámetros para el modelo de dos etapas.

TABLE 1. Results of an age validation experiment using increments counted in the otoliths of yellowfin tuna larvae reared from fertilized eggs at Yaeyama Station, Ishigaki Island, Japan.

TABLA 1. Resultados de un experimento de validación de edad usando incrementos contados en los otolitos de larvas de atún aleta amarilla criados de huevos fertilizados en la Estación Yaeyama, Isla Ishigaki (Japón).

| Days after hatching | Sample size | Fish length (mm NL of SL) ¹ (mean ± SD) | Number of increments (mean ± SD) | Diameter of sagitta (μm) (mean ± SD) |
|---------------------|----------------------|--|--|--|
| Días desde eclosión | Tamaño de la muestra | Talla del pez (mm NL o SL) ¹ (promedio ± DE) | Número de incrementos (promedio ± DE) | Diameter of ságita (μm) (promedio ± DE) |
| 0.0 | 26 | 2.0 ± 0.15 | ² | 9.5 ± 1.24 |
| 0.5 | 19 | 3.2 ± 0.15 | 1.0 ± 0.00 | 13.5 ± 1.26 |
| 1.0 | 6 | 3.3 ± 0.15 | 1.0 ± 0.00 | 15.0 ± 0.63 |
| 1.5 | 2 | 3.0 ± 0.14 | 1.5 ± 0.71 | 15.0 ± 1.41 |
| 4.0 | 11 | 3.5 ± 0.24 | 4.0 ± 0.00 | 20.4 ± 0.67 |
| 6.0 | 1 | 4.1 | 6.0 | 25.0 |
| 10.0 | 3 | 4.6 ± 0.35 | 10.0 ± 0.00 | 33.3 ± 1.15 |
| 16.0 | 3 | 6.6 ± 0.42 | 15.7 ± 0.57 | 58.7 ± 4.16 |
| 24.0 | 3 | 7.0 ± 0.32 | 21.7 ± 1.53 | 83.0 ± 12.12 |

¹ Notochord or standard length measurements made dependent on stage of larval development—
Según la etapa de desarrollo larval, se midió la talla de notocordio o estándar

² Preparation for scanning electron microscope not possible—
Preparación para el microscopio electrónico de barrida imposible

TABLE 2. Somatic and otolith growth data on yellowfin larvae reared at two different temperatures from hatching (age 0.0) to four days after hatching and preserved in ethanol. Larvae were sampled from 2 or 3 replicate tanks at each sampling interval for each temperature treatment.

TABLA 2. Datos de crecimiento somático y de los otolitos correspondientes a larvas de aleta amarilla criadas a dos temperaturas diferentes desde la eclosión (edad 0,0) hasta cuatro días después de la misma y conservadas en etanol. Se muestrearon larvas de 2 ó 3 tanques replicados en cada intervalo de muestreo para cada tratamiento de temperatura.

| Age Edad (d) | 26°C treatment — Tratamiento de 26°C | | | | 29°C treatment — Tratamiento de 29°C | | | | | | | |
|--------------------|---|--------------------------|--|-----------------|---|----------------|--|--------------------------|----------------|-----------------|-------------|-----------|
| | Notochord length Talla de notocordio (mm) | | Otolith diameter Diámetro del otolito (µm) | | Notochord length Talla de notocordio (mm) | | Otolith diameter Diámetro del otolito (µm) | | | | | |
| | n | Mean ± SD Prom. ± DE | Range Rango | n | Mean ± SD Prom. ± DE | Range Rango | n | Mean ± SD Prom. ± DE | Range Rango | | | |
| 0.0 | 17 ¹ | 2.03 ± 0.08 | 1.90-2.20 | 6 | 9.2 ± 0.76 | 8.0-10.0 | 4 | 2.08 ± 0.10 | 2.00-2.20 | 11 ¹ | 10.1 ± 1.14 | 8.0-12.0 |
| | | | | 7 | 8.4 ± 0.79 | 8.0-10.0 | 5 | 2.16 ± 0.13 | 2.10-2.20 | | | |
| | | | | 2 | 11.0 ± 1.41 | 10.0-12.0 | 2 | 2.30 | | | | |
| 0.5 | 6 | 3.18 ± 0.07 | 3.10-3.30 | 10 ¹ | 13.2 ± 1.03 | 12.0-14.0 | 6 | 3.32 ± 0.07 | 3.20-3.40 | 9 ¹ | 13.8 ± 1.48 | 11.0-16.0 |
| | 6 | 3.00 ± 0.12 | 2.80-3.10 | | | | 8 | 3.20 ± 0.11 | 3.00-3.30 | | | |
| | 16 ¹ | 3.30 ± 0.13 | 3.10-3.50 | 3 ¹ | 15.3 ± 0.58 | 15.0-16.0 | 5 | 3.42 ± 0.09 | 3.30-3.50 | 3 ¹ | 14.7 ± 0.58 | 14.0-15.0 |
| 1.5 | 4 | 3.35 ± 0.06 | 3.30-3.40 | 7 ¹ | 16.1 ± 0.90 | 15.0-18.0 | 4 | 3.05 ± 0.10 | 2.90-3.10 | 7 ¹ | 16.3 ± 1.38 | 14.0-18.0 |
| | 4 | 3.08 ± 0.18 | 2.90-3.30 | | | | 4 | 3.33 ± 0.10 | 3.20-3.40 | | | |
| | 2 | 3.40 | | | | | 4 | 3.40 | | | | |
| 2.0 | 15 ¹ | 3.39 ± 0.09 ² | 3.20-3.50 | 15 ¹ | 17.3 ± 0.88 | 16.0-18.0 | 11 ¹ | 3.24 ± 0.07 | 3.10-3.30 | 11 ¹ | 17.8 ± 0.75 | 16.0-19.0 |
| | 10 ¹ | 3.40 ± 0.13 | 3.20-3.50 | | | | 16 ¹ | 3.36 ± 0.18 | 3.00-3.60 | | | |
| | 12 ¹ | 3.43 ± 0.10 | 3.30-3.60 | 9 ¹ | 19.8 ± 0.44 | 19.0-20.0 | 5 | 3.42 ± 0.09 | 3.30-3.50 | 8 ¹ | 19.6 ± 0.52 | 19.0-20.0 |
| 3.5 | 15 ¹ | 3.33 ± 0.22 | 2.80-3.60 | 4 | 20.3 ± 0.50 | 20.0-21.0 | 5 | 3.37 ± 0.22 | 3.10-3.50 | 14 ¹ | 20.2 ± 0.58 | 20.0-22.0 |
| | | | | 5 | 18.8 ± 0.83 | 18.0-20.0 | 5 | 3.14 ± 0.09 | 3.00-3.20 | | | |
| | | | | 2 | 20.0 | | 15 ¹ | 3.51 ± 0.10 ² | 3.20-3.60 | | | |
| 4.0 | 27 ¹ | 3.56 ± 0.27 ² | 3.00-4.00 | 27 ¹ | 20.6 ± 1.18 | 18.0-24.0 | 3 | 3.20 ± 0.10 | 3.10-3.30 | 3 | 21.0 ± 1.00 | 20.0-22.0 |

¹ Data from replicates pooled — Datos de replicados agrupados

² The mean is significantly greater than the mean length at the other temperature treatment ($P < 0.05$) —

El promedio es significativamente mayor que la talla media del otro tratamiento de temperatura ($P < 0.05$).

TABLE 3. Length-age regression and bootstrap parameter estimates for the three linear growth stanzas of yellowfin larvae.
TABLE 3. Estimaciones de regresión talla-edad y de *bootstrap* de los parámetros correspondientes a los tres escalones de crecimiento lineal de las larvas de aleta amarilla.

| Age Edad (d) | Stanza Escalón | n | Regression estimates Estimaciones de regresión | | Regression intersections Intersecciones de regresión | | Bootstrap estimates Estimaciones de <i>bootstrap</i> (n = 5,000) | | Bootstrap intersections Intersecciones de <i>bootstrap</i> | |
|--------------------|-------------------|-----|--|--------------------|--|----------------------|--|------------------------------|--|----------------------|
| | | | Intercept Intercepto | Slope Pendiente | Age—Edad (d) | Length—Talla (mm) | Intercept (SD) Intercepto (DE) | Slope (SD) Pendiente (DE) | Age—Edad (d) | Length—Talla (mm) |
| 0.5 – 5.0 | 1 | 233 | 3.186 | 0.068 | 5 | 3.53 | 3.182 (0.022) | 0.074 (0.010) | 5 | 3.55 |
| >5.0 ≤16.0 | 2 | 12 | 2.189 | 0.267 | 16 | 6.47 | 2.222 (0.086) | 0.266 (0.014) | 16 | 6.48 |
| ≥16.0 ≤24.0 | 3 | 6 | 5.667 | 0.050 | | | 5.704 (0.550) | 0.048 (0.027) | | |

TABLE 4. Regression and bootstrap parameter estimates for a two-stage model of otolith growth for yellowfin larvae.
TABLE 4. Estimaciones de regresión y de *bootstrap* de los parámetros correspondientes a un modelo de dos escalones de crecimiento de otolitos para larvas de aleta amarilla.

| Age Edad (d) | Stanza Escalón | n | Regression model Modelo de regresión | Regression estimates Estimaciones de regresión | | Regression intersections Intersecciones de regresión | | Bootstrap estimates (SD) Estimaciones de <i>bootstrap</i> (DE) (n = 5,000) | | Bootstrap intersections Intersección de <i>bootstrap</i> | |
|--------------------|-------------------|-----|---|---|--|---|--|--|--|---|--|
| | | | | a = 15.261 b = 0.215 c = 1.779 d = 3.444 | Otolith diameter Diámetro del otolito (µm) | Age Edad (d) | Otolith diameter Diámetro del otolito (µm) | Age Edad (d) | Otolith diameter Diámetro del otolito (µm) | | |
| 0.5 – 6.0 | 1 | 163 | $y = ax^b$ | a = 15.261 b = 0.215 | 6 | 22.44 | a = 15.632 (0.146) b = 0.210 (0.008) | 6 | 22.76 | | |
| >6.0 ≤24.0 | 2 | 9 | $y = c + dx$ | c = 1.779 d = 3.444 | | | c = 2.127 (1.415) d = 3.438 (0.233) | | | | |

VALIDACION DE LA EDAD Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL ATUN ALETA AMARILLA, *THUNNUS ALBACARES*, CRIADAS EN EL LABORATORIO

por

Jeanne B. Wexler, Daniel Margulies, Shukei Masuma¹, Nobuhiro Tezuka¹, Kazuhisa Teruya²,
Masakazu Oka³, Masaei Kanematsu⁴, y Hideki Nikaido⁵

RESUMEN

En septiembre de 1992 se realizaron en la Estación Experimental Yaeyama de la Japan Sea-Farming Association (JASFA) en la Isla Ishigaki (Japón) experimentos diseñados para validar la periodicidad de los incrementos en los otolitos y para examinar las tasas de crecimiento de las larvas de atún aleta amarilla. Se criaron las larvas de huevos puestos por aletas amarillas cautivos en un corral marino en la bahía adyacente a la Estación Yaeyama. Los resultados indican que el primer incremento es depositado menos de 12 horas después de la eclosión en los otolitos de las larvas de aleta amarilla, y que los incrementos de crecimiento subsiguientes son formados a diario a partir de las primeras 24 horas después de la eclosión en larvas de hasta 16 días de edad. Se examinaron y compararon las tasas de crecimiento somático y de los otolitos en larvas en las etapas de saco vitelino y de primera alimentación criadas en aguas de temperatura constante entre 26°C y 29°C. A pesar del desarrollo más rápido de las larvas criadas a 29°C, las tasas de crecimiento no fueron significativamente diferentes entre los dos tratamientos. Debido a la mala supervivencia a partir de los cuatro primeros días, no fue posible examinar las tasas de crecimiento más allá del inicio de la primera alimentación, cuando las diferencias en el crecimiento podrían hacerse más aparentes. Se examinó también el crecimiento somático y de los otolitos para larvas criadas en temperaturas de agua ambiental en la bahía durante los 24 días inmediatamente después de la eclosión. Nuestras estimaciones de las tasas de crecimiento en el laboratorio fueron comparables a valores reportados previamente para larvas de aleta amarilla de edades similares criadas en el laboratorio, pero más bajas que las tasas de crecimiento reportadas para larvas capturadas en el mar. La discrepancia entre las tasas de crecimiento en el laboratorio y el mar podría estar asociada con condiciones subóptimas de crecimiento en el laboratorio.

Palabras clave: CRECIMIENTO, LARVAS Y JUVENILES DE ATUN ALETA AMARILLA, OTOLITOS, TEMPERATURA, *THUNNUS ALBACARES*, VALIDACION DE EDAD

INTRODUCCION

La dinámica de crecimiento de los peces larvales y juveniles podría ejercer un efecto importante sobre el éxito del reclutamiento (Houde, 1987; Miller *et al.*, 1988). La variabilidad en el reclutamiento de las larvas de peces marinos, por contraste con las larvas de agua dulce, podría estar regulado de forma importante por los efectos dependientes de la densidad sobre el crecimiento y la mortalidad, dado que las larvas marinas están caracterizadas por la duración relativamente larga de la etapa larval (Houde, 1994). Es posible que las larvas marinas sean más vulnerables a la inanición y la mortalidad

¹ JASFA, Amami Station, 955-5 Hyo Setonti, Oshima-gun, Kagoshima 894-2424, Japón

² JASFA, Kamiura Station, Tuiura Kamiura, Minamikaifu-gun, Ooita 879-2602, Japón

³ OFCF, Sankaido Bldg. 9-13, Akasaka 1, Minato-ku, Tokyo 107-0052, Japón

⁴ JAFSA, Hakatajima Station, 2750 Kinoura Hakata, Ochi-gun, Ehime 794-2305, Japón

⁵ Hyogo Prefecture Sea-Farming Association, 22-1 Minamifutami Futami, Akashi, Hyogo 675-0163, Japón

por depredación especialmente cuando las fuentes de alimento son limitadas. Adicionalmente, la temperatura puede ejercer un efecto importante sobre las tasas vitales (es decir, las tasas de mortalidad y crecimiento) y la energética de las larvas (Houde, 1989). Es posible que cambios pequeños en la temperatura del agua, especialmente a temperaturas más elevadas, ejerzan una influencia importante sobre las tasas de ingestión y las tasas de crecimiento subsiguientes durante las etapas larval y juvenil (Boehlert, 1981; Houde, 1974; Houde, 1989). Estudios de laboratorio y de campo diseñados para examinar la influencia de factores bióticos y abióticos sobre las tasas vitales de las larvas son necesarios para poder entender el proceso de reclutamiento en los peces pelágicos.

La información sobre el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla, *Thunnus albacares*, es limitada. La frecuencia de desove de aletas amarillas capturados con red de cerco (Schaefer, 1996, 1998) y criados en tanques (Bayliff, 1998) en el Pacífico oriental y aletas amarillas criados en corrales en el Pacífico occidental (Masuma *et al.*, 1993) es casi diaria, predominantemente con temperaturas superficiales del mar entre 26° y 29°C. Se han recolectado larvas de aleta amarilla durante estudios de ictioplancton en aguas costeras y oceánicas con temperaturas superficiales de más de 24°C (Ueyanagi, 1969; Mori, 1970; Lang *et al.*, 1994; Boehlert y Mundy, 1994), mayor evidencia de que el desove tiene lugar solamente a esas temperaturas más elevadas. Lang *et al.* (1994) realizaron el único estudio del crecimiento de larvas de aleta amarilla capturadas en el mar; usaron los otolitos para determinar la edad, y estimaron una tasa de crecimiento de 0,47 mm·d⁻¹ para larvas capturadas en el Golfo de México, partiendo del supuesto de que se forman los incrementos en los otolitos diariamente. El rango de temperaturas óptimo para el crecimiento fue aproximadamente 29,0° a 29,5°C.

Aunque la temperatura podría ser un factor determinante de la dinámica de la etapa larval (Pepin, 1991), los estudios de laboratorio todavía no han explorado los efectos de temperatura sobre las tasas vitales de las larvas de aleta amarilla. Harada *et al.* (1980b) examinaron la tasa de eclosión de huevos de aleta amarilla incubados a varias temperaturas, y descubrieron que para larvas normalmente desarrolladas la tasa fue máxima para huevos incubados a temperaturas entre 26,4° y 27,8°C. Se reportaron algunos datos de crecimiento y supervivencia de larvas de aleta amarilla criadas de huevos artificial (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a) y naturalmente fertilizados (Kaji *et al.*, 1999) en aguas de temperatura no controlada de estudios de laboratorio realizados en el Pacífico occidental. En general, el crecimiento de las larvas de aleta amarilla fue lento entre 1 y 6 días después de la eclosión, seguido por crecimiento más rápido hasta los 35 días en cautiverio (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a; Kaji, *et al.*, 1999). La mayoría de la mortalidad ocurrió durante los 6 primeros días después de la eclosión (Mori *et al.*, 1971; Kaji, *et al.*, 1999). En nuestro estudio examinamos el desarrollo, supervivencia, y crecimiento de larvas de aleta amarilla en las etapas de saco vitelino y primera alimentación en reacción a dos temperaturas controladas.

Se han usado a menudo los incrementos en los otolitos de larvas y juveniles capturados en el mar para determinar la edad y estimar tasas de crecimiento a partir de datos de tamaño a edad basados en la periodicidad diaria de la formación de incremento (ver repaso en Campana y Neilson, 1985). Antes de nuestro estudio, no se había validado la formación de incrementos diarios de crecimiento en los otolitos de larvas de aletas amarillas de etapa temprana y tardía, aunque sí se habían validado tasas de deposición diaria en los otolitos de aletas amarillas capturados en el Océano Pacífico central en el rango de tamaños de 25 a 40 cm de talla furcal (TF) (Yamanaka, 1990) y de aletas amarillas reclutados del Océano Pacífico oriental en el rango de tamaños de 40 a 148 cm TF (Wild y Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995).

Muchos estudios han usado también el ancho de los incrementos para retrocalcular las tallas a edades anteriores mediante la definición de una relación proporcional entre la talla somática y el tamaño del otolito para poder estimar las tasas de crecimiento individuales a partir de una muestra de la población (por ejemplo, Methot, 1981; Penney y Evans, 1985; Crecco y Savoy, 1985; Butler, 1989; Thorrold y Williams, 1989; Laidig *et al.*, 1991). Sin embargo, los factores ambientales que posiblemente

causen variación en el crecimiento de los otolitos no son siempre los mismos factores que afectan el crecimiento somático (Campana y Neilson, 1985; Mosegaard y Titus, 1987; Mosegaard *et al.*, 1988; Milicich y Choat, 1992; Hoff y Fuiman, 1993). Ya que el crecimiento de los otolitos no responde siempre a cambios en el crecimiento somático, pueden ocurrir otolitos desproporcionadamente grandes en poblaciones de crecimiento relativamente lento (Reznick *et al.*, 1989; Secor y Dean, 1989; Casselman, 1990; Wright *et al.*, 1990; Moksness, 1992; Secor y Dean, 1992), y pueden resultar en tallas retrocalculadas menores que las tallas de peces muestreados a edad (Ricker, 1969; Campana, 1990). Es por lo tanto necesario investigar la reacción de cada especie a los factores que posiblemente afecten el crecimiento somático y de los otolitos, además de validar la periodicidad diaria de los incrementos de los otolitos, antes de aplicar los procedimientos de retrocálculo.

Los objetivos de este estudio fueron: 1) determinar el momento y periodicidad de la formación de incrementos en los otolitos de larvas de aleta amarilla de edad conocida eclosionadas de huevos fertilizados naturalmente; 2) estimar y comparar las tasas de supervivencia, el desarrollo, y las tasas de crecimiento somático y de los otolitos de larvas de aleta amarilla criadas a dos temperaturas dentro del rango de aquellas encontradas en el ambiente natural; y 3) caracterizar el crecimiento somático y de los otolitos de larvas de aleta amarilla criadas en cautiverio durante un período de tiempo extendido para contrastar las tasas de crecimiento en el laboratorio con estimaciones de crecimiento en el ambiente natural.

MÉTODOS Y MATERIALES

Procedimientos experimentales

Se realizaron los experimentos en la Estación Experimental Yaeyama de la Japan Sea-Farming Association (JASFA) en la Isla Ishigaki, Prefectura de Okinawa (Japón) (Figura 1). El personal de la JASFA mantuvo una población de aletas amarillas reproductores de peces de entre 3 y 6 años de edad en un corral marino de 20 m de diámetro por 10 m de profundidad situado en la bahía adyacente a la Estación Yaeyama. Estos peces comenzaron a desovar en mayo de 1992 y siguieron desovando casi diariamente hasta mediados de octubre de 1992 (Masuma *et al.*, 1993). El 18 de septiembre de 1992 el desove ocurrió a las 2200 horas, tras lo cual se recolectaron unos 370.000 huevos fertilizados en la superficie del agua. La temperatura superficial en el corral fue 28,4°C. Los huevos fueron trasladados al laboratorio y mantenidos a densidades de 31 y 32 huevos·L⁻¹, respectivamente, en dos tanques de 100 L con agua de mar de la bahía aerada y filtrada. Se controló la temperatura del agua mediante baños de agua para mantenerla a 26°C en un tanque y 29°C en el otro; las desviaciones en la temperatura fluctuaron ± 0,4°C en cada tanque. Aproximadamente tres horas antes de la eclosión, se distribuyeron los huevos al azar a 13 huevos·L⁻¹ entre tres tanques replicados de 30 L correspondientes a cada tratamiento de temperatura (o sea, tres replicados de 26°C y tres de 29°C). Se usaron baños de agua de temperatura controlada para mantener la temperatura del agua en 26°C y 29°C durante el experimento; las desviaciones en la temperatura fluctuaron ± 0,9°C y ± 0,6°C para cada conjunto de tanques replicados, respectivamente. El nivel de salinidad, que fue afectado por el agua filtrada procedente de la bahía, varió de 33,8 a 34,3‰. Los huevos y larvas fueron expuestos a un ciclo diario de luz de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Se usaron luces fluorescentes directamente encima de los tanques para aumentar la luz natural indirecta, y en combinación el nivel de luz fue de 200-400 lux en la superficie durante las horas diurnas.

Se mantuvo el nivel de alimento para las larvas en primera alimentación entre 5.000 y 6.500 rotíferos·L⁻¹. Los rotíferos fueron enriquecidos con aceite de calamar antes de ser usados. Se mantuvieron los niveles nominales de alimento calculando el promedio de dos alícuotas de 50 mL tomadas dos veces por día. Se añadió también *Nannochloropsis* sp. a cada tanque a densidades de 500.000 células·mL⁻¹ para proporcionar un contraste visual para la selección de presas y para ayudar en la reducción de metabolitos (Yamasaki y Hirata, 1989). Se añadió *Nannochloropsis* sp. adicional después de cambios

de agua a fin de mantener densidades similares de las algas en cada tanque. Se cambió el 20% del agua en cada tanque después del primer día de alimentación para reducir la acumulación de metabolitos.

Se tomaron muestras de larvas de los tanques en el momento de eclosión, y posteriormente a intervalos de 12 horas durante cuatro días, y se conservaron en etanol al 95% neutralizado con TRIS (tris[hidroximetileno]-aminometano) para análisis de los otolitos y el crecimiento. Al cabo de 24 horas se cambió el medio de conservación. También se fijaron y conservaron en formol al 5% huevos (etapa de embrión sin cola) y larvas en eclosión para obtener información sobre el diámetro de los huevos y para comparar el tamaño medio de eclosión de las larvas de cada tratamiento de temperatura. Se terminó el experimento al cabo de cuatro días debido a la alta mortalidad de las larvas en el tratamiento de alta temperatura.

Se crió un gran número de larvas del mismo desove en agua a temperatura ambiental de la bahía y del laboratorio en dos tanques circulares de 100 L durante 5 a 6 días y en un tanque rectangular de 5.000 L durante 24 días, a densidades de aproximadamente 10 larvas·L⁻¹ en los tanques de 100 L y de 20-30 larvas·L⁻¹ en el tanque de 5.000 L. La temperatura del agua en los tanques varió entre 26,4°C y 28,4°C. El nivel de luz en la superficie del agua durante las horas diurnas fue 200-400 lux en los tanques de 100 L, pero solamente 75-100 lux en el tanque de 5.000 L. Durante los 3-4 días después de la primera alimentación, se mantuvo el nivel de alimento en 5.000 a 6.000 rotíferos·L⁻¹ en uno de los tanques de 100 L. Se clasificó por tamaño zooplancton silvestre de entre 42 y 123 µm y se mantuvo en el otro tanque de 100 L a densidades de 200 a 400 organismos·L⁻¹ (predominantemente nauplios de copépodo). Se alimentó a las larvas en el tanque de 5.000 L con rotíferos a densidades de 1.000 a 5.000·L⁻¹ durante de 3 a 24 días después de la eclosión y se suplió con de 100 a 300 nauplios de *Artemia*·L⁻¹ entre 11 y 24 días después de la eclosión. Los rotíferos y *Artemia* fueron enriquecidos con aceite de calamar antes de la alimentación. Se añadió y mantuvo *Nannochloropsis* sp. en cada uno de los tanques a 500.000 células·mL⁻¹. Se cambió el 20% del agua un día después de la primera alimentación en los tanques de 100 L. Se mantuvo agua de mar filtrada, con una tasa de intercambio de entre 10 y 30%/día en el tanque de 5.000 L. Se tomaron muestras de las larvas que sobrevivían 5, 6, 10, 16, y 24 días después de la eclosión y se conservaron en etanol neutro para validar los incrementos diarios en los otolitos y examinar el crecimiento en talla. Aunque se consiguió una cantidad limitada de muestras a partir de los 6 días después de la eclosión, los tamaños de las larvas muestreadas fueron representativos de los supervivientes restantes en el tanque.

Procedimientos de laboratorio y análisis de los datos

Se midió la longitud de todos los especímenes conservados antes de extraer los otolitos. Se midió la talla de notocordio (NL) de las larvas de menos de 6 días de edad y la talla estándar (SL) de las larvas de entre 10 y 24 días de edad al 0,1 mm más cercano. No se ajustaron las tallas para compensar la reducción de tamaño causada por su fijación y conservación en etanol. Es posible que su talla se reduzca hasta un 7%, en promedio, a partir de estimaciones correspondientes a larvas de peces de otros géneros conservadas en etanol (Fowler y Smith, 1983; Kruse y Dalley, 1990; Jennings, 1991). No obstante, ya que todas las larvas fueron muestreadas y conservadas de manera similar, se supuso que la reducción en el tamaño no afectaría la comparación del tamaño o crecimiento entre larvas criadas con distintos tratamientos de temperatura. Se midió el diámetro de los huevos conservados en formol al 0,01 mm más cercano. No se ajustaron los tamaños de las larvas en eclosión conservadas en formol para compensar la reducción de tamaño, pero a partir de los resultados preliminares de mediciones realizadas antes y después de fijar y conservar larvas en experimentos realizados durante el mes siguiente (Margulies, *et al.*, 2001), la reducción varió de 0 a 12% y fue, en promedio, 4,6% (Margulies y Wexler, *observ. pers.*).

Los huevos y larvas conservados en formol fueron enjuagados con agua destilada, secados

durante 48 horas a 60°C, y dejados dos días en un secador antes de pesarlos. Los huevos secos fueron pesados al 0,1 mg más cercano. No se usaron los pesos secos de las larvas para los análisis de crecimiento debido a una microbalanza defectuosa.

Se usaron un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de *t* para varianzas desiguales para comprobar la igualdad de los tamaños medios entre replicados y entre tratamientos de temperatura. Se agruparon las mediciones de los tanques replicados para cada tratamiento en cada intervalo de muestreo si sus promedios no eran significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$). Se usó la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK) de rangos múltiples (Zar, 1984) para examinar las diferencias entre los tamaños medios. Se usó un análisis de covarianza (ANCOVA) para comparar las pendientes y promedios ajustados de segmentos lineales de los datos de crecimiento.

Se estimó la supervivencia media esperada (Ricker, 1975; Margulies, 1989) de las larvas en cada tanque replicado después de terminar el experimento de temperatura. Se transformaron los porcentajes del número de supervivientes esperados en arcosenos y se realizaron comparaciones entre tratamientos mediante una prueba de *t*.

Preparación de los otolitos y procedimientos

Las ságitas y las lapilas de cada larva muestreada fueron extraídas, limpiadas con agua destilada, y medidas bajo un microscopio de luz con una ampliación de 480x. Se midió el diámetro de cada otolito a lo largo del eje mayor con un micrómetro ocular. Para la mayoría de las larvas muestreadas, el diámetro de los dos otolitos de cada pareja fue igual, con la excepción de los otolitos de 4 larvas de 4 días de edad y de las larvas de 10-24 días de edad. La diferencia en el diámetro entre la ságita y lapila izquierda y derecha y entre las ságitas y las lapilas no fue más de 2 μm en las larvas más jóvenes y fue de 1-4 μm entre la ságita izquierda y derecha de las larvas mayores. Ya que la diferencia en el diámetro de los otolitos fue mínima, se usó el diámetro del otolito que presentó los incrementos más claramente visibles para la validación de la edad y el análisis del crecimiento. Se usó solamente la ságita izquierda o derecha de las larvas de 10-24 días de edad porque los incrementos estaban demasiado comprimidos y difíciles de distinguir en la lapila, de menor diámetro.

Se usaron microscopios de luz (ML) con la mayor ampliación posible (1.440x) y un microscopio electrónico de barrida (MEB) con una ampliación de hasta 6.000x para examinar los incrementos en los otolitos seccionados de las larvas. Se empotraron los otolitos en un molde de resina *Castolite* y se seccionaron puliendo en un plano frontal o transversal hasta llegar al núcleo (centro inicial de crecimiento). Se probaron varios medios, concentraciones, y duraciones de grabación para hacer destacar los incrementos mal definidos cerca del núcleo. Las mejores combinaciones resultaron ser concentraciones de 0,03 N y 0,05 N HCl durante 5 a 15 segundos y 0,05 N HNO₃ durante 3 a 5 segundos. Después de ser grabados los otolitos, fueron enjuagados primero en agua destilada y luego en blanquimiento y agua destilada.

Se usó el ML también para examinar los incrementos en otolitos enteros de larvas de 0,5 y 1 días de edad. También se seccionaron algunos de estos otolitos para permitir verificar el número de incrementos contados en otolitos enteros. Los otolitos de las larvas en eclosión fueron demasiado pequeños para poder seccionarlos para el ML o MEB para verificar la imagen vista en la superficie del otolito entero. Fue posible medir el diámetro de los otolitos con ML, pero la ampliación más baja fue insuficiente para distinguir los incrementos en los otolitos enteros de las larvas en eclosión.

La primera autora contó los incrementos en los otolitos seccionados a ciegas (se contaron varias veces sin saber la edad ni los resultados de conteos anteriores) en fotografías de MEB y directamente usando aceite de inmersión con ML. Se contaron los incrementos completos en cada otolito hasta cinco veces o hasta que se obtuviera un mínimo de tres conteos replicados. Se usó el número de incrementos contado de preparaciones adecuadas (que no fueran excesivamente pulidas ni excesivamente grabadas) para determinar la tasa de formación de incrementos usando un análisis de regresión.

RESULTADOS

Desarrollo

A 26°C, la mayoría de los huevos eclosionó dentro de 22 horas después de la fertilización (entre 1900 y 2000 horas), y la absorción de la yema y primera alimentación ocurrieron aproximadamente 60 horas después de la eclosión. La mayoría de los huevos mantenidos a 29°C eclosionó dentro de 19 horas después de la fertilización (entre las 1600 y 1700 horas), y la absorción de la yema y primera alimentación ocurrieron aproximadamente 50 horas después de la eclosión.

Supervivencia

Al fin del cuarto día del experimento, casi todas las larvas del tratamiento de temperatura de 29°C habían muerto. Ninguna de las larvas sobrevivió en dos de los tres tanques replicados, por lo que no se pudo calcular la supervivencia esperada. Se estimó la supervivencia esperada en el tercer tanque en solamente 1,6%. Hubo muchos supervivientes en dos de los tres tanques replicados del tratamiento de 26°C, y se estimó la supervivencia esperada en esos tanques en 16,5 y 53,4%. Ocurrió una mortalidad elevada en el tercer tanque replicado en 26°C, para una supervivencia esperada estimada de 3,4%. Se comparó la sola supervivencia porcentual transformada en arcoseno del tratamiento de alta temperatura (7,27) con el promedio de los tres valores de temperatura baja (promedio = 27,18, DE = 18,37) y el promedio de solamente los dos valores más altos de temperatura baja (promedio = 35,46, DE = 16,25). Aunque ninguna de las dos comparaciones fue estadísticamente significativa ($t_{0,05(2),2} = 0,939$, $P > 0,20$ y $t_{0,05(2),1} = 1,42$, $P > 0,20$, respectivamente), fue aparente una mortalidad más alta para las larvas del tratamiento de 29°C.

Efectos de la fijación y conservación

El tamaño de los huevos de aleta amarilla no fue afectado por la fijación y conservación en formol, a juzgar por mediciones efectuadas antes y después de fijar y conservar huevos de aleta amarilla en experimentos realizados durante el mes siguiente (Margulies y Wexler, *observ. pers.*). El diámetro de los huevos justo antes de la eclosión varió entre 0,93 y 1,0 mm (promedio ± 1 , DE = 0,95 mm $\pm 0,02$). El peso seco medio de los huevos conservados en formol fue 36,3 mg (SD = 1,4), y varió de 32,8 a 38,2 mg.

Validación de la edad

En general, el tamaño de los otolitos de las larvas de aleta amarilla criadas en el laboratorio (de 3 a 24 días de edad) fue aproximadamente la mitad de los de las larvas de escómbrido capturadas en el mar de rango de edades similar (por ejemplo, Lang, 1991; Wexler, 1993). El menor tamaño y estructura de incrementos menos clara de los otolitos de los especímenes criados en el laboratorio dificultó los procedimientos de empotrar y grabar los otolitos y resultó en tamaños de muestra limitados para cada intervalo de tiempo (Tabla 1). Se contaron los incrementos en el 75% de los otolitos preparados para examinar. En el otro 25%, los incrementos estuvieron mal definidos y fue imposible contarlos. Seccionar y grabar los otolitos con incrementos mal definidos no mejoró apenas la definición de los incrementos, y en la mayoría de los casos fueron destruidos durante el procedimiento. Una ságitas de una larva de 10 días de edad tuvo también un primordio accesorio con incrementos rodeando ambas regiones núcleo. Esto nunca ha sido descrito en otolitos de larvas de escómbrido capturadas en el mar.

Para ambos tratamientos de temperatura, el primer incremento estuvo completamente formado en los otolitos a las 12 horas de la eclosión (Figura 2; Tabla 1). Los incrementos subsiguientes estuvieron completamente formados temprano en la mañana después de las primeras 24 horas de eclosión en larvas de hasta 16 días de edad (o sea, el segundo incremento estuvo completamente formado 36 horas después de la eclosión, el tercero 60 horas después, etcétera). La relación entre el número de incrementos y tiempo después de las primeras 24 horas de eclosión fue descrita por la ecuación

$$I = 0.06 + 0.98 d$$

$$(r^2 = 0.99; n = 26),$$

donde I = número de incrementos y d = edad en días. La pendiente de la ecuación de regresión de 0,98 (DE = 0,01) no fue significativamente diferente de 1 ($t_{0,05(24)} = 1,96, P > 0,05$). Sin embargo, el número de incrementos contado en los otolitos de larvas de 24 días de edad subestimó la edad por 1 a 4 días (Tabla 1). Los incrementos muy juntos de solamente 0,3 μm de ancho cerca del núcleo de estos otolitos pudieron ser detectados solamente con el MEB (Figuras 3-4). La relación cambia a $I = 0,33 + 0,92 d$ cuando se incluyen larvas de 24 días de edad en la regresión. La tasa de deposición de 0,92 (DE = 0,02) incrementos por día es significativamente menos que 1 ($t_{0,05(27)} = 5,41, P < 0,001$).

Crecimiento

Larvas de saco vitelino y en primera alimentación

La talla media de las larvas en eclosión conservadas en formol fue 2,28 mm (DE = 0,107) para el tratamiento de 26°C y 2,45 mm (DE = 0,114) para el tratamiento de 29°C. Las tallas medias fueron significativamente diferentes (ANOVA, $F_{0,05(1),1,58} = 35,5, P = 0,000$).

La talla media de las larvas conservadas en formol eclosionadas de huevos puestos a 26,5°C en octubre e incubadas a entre 26° y 26,9°C (promedio = 2,51 mm, DE = 0,107) (Margulies *et al.*, 2001) fue también comparada con aquellas de los dos tratamientos de temperatura. Los tres promedios fueron significativamente diferentes (ANOVA, $F_{0,05(1),2,86} = 37,86, P < 0,0001$; SNK, $P < 0,05$). La talla media de las larvas del tratamiento de 26°C fue menor que la de las larvas del tratamiento de 29°C y de las del desove de octubre.

Para las larvas conservadas en etanol, no fue posible agrupar las mediciones de los tanques replicados para muchos de los intervalos de muestreo porque sus promedios fueron significativamente diferentes (Tabla 2). En algunos casos se usaron solamente datos de dos de los tres replicados porque las larvas muestreadas del otro tanque replicado parecían moribundas en el momento de muestreo. Fue posible comparar los promedios de las tallas agrupadas entre tratamientos para las larvas muestreadas en y más allá de la primera alimentación (es decir, 2 a 4 días después de la eclosión). A pesar de la menor talla media de eclosión de las larvas criadas a 26°C, la talla media justo antes de la primera alimentación (2 días después de la eclosión) fue significativamente diferente de la de la temperatura más alta ($P < 0,002$). Las tallas medias de los datos agrupados de cada tratamiento de temperatura no fueron significativamente diferentes en y más allá de la primera alimentación (2,5 a 4 días después de la eclosión) ($P > 0,60$).

No fue posible aplicar modelos lineales a todos los datos de tamaño a edad para comparaciones de las tasas de crecimiento somático y de los otolitos porque el rango de los datos fue limitado y la varianza no fue homogénea dentro de cada uno de los tratamientos antes o después de ser transformados. Por lo tanto, se comparó la porción lineal de los datos de cada tratamiento de temperatura (es decir, 0,5 a 4,0 días después de la eclosión), usando el tamaño medio a edad de cada tanque replicado.

Para ambos tratamientos, la talla de las larvas de saco vitelino aumentó aproximadamente 1,0 mm en las 12 horas después de la eclosión. El crecimiento fue muy lento y lineal hasta 4,0 días después de la eclosión o 1,5 a 2 días después de la primera alimentación (Figura 5). Las relaciones de crecimiento entre NL y días después de la eclosión (d) para las larvas de los dos tratamientos de temperatura fueron descritas por las ecuaciones

$$NL = 3,16 + 0,09 d \quad (r^2 = 0,44; n = 23)$$

y

$$NL = 3,23 + 0,04 d \quad (r^2 = 0,07; n = 20)$$

respectivamente. La pendiente del tratamiento de alta temperatura no fue significativamente diferente de cero ($P > 0,10$) pero sí lo fue la del tratamiento de baja temperatura ($P < 0,001$). Independientemente de esto, las tasas de crecimiento estimadas por las pendientes de los modelos lineales para larvas en los tratamientos de baja ($0,09 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$, $\text{DE} = 0,02$) y alta ($0,04 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$, $\text{DE} = 0,03$) temperatura no fueron significativamente diferentes (ANCOVA, $F_{0,05(1),1,45} = 0,21$, $P > 0,60$), ni tampoco lo fueron los promedios ajustados ($F_{0,05(1),1,45} = 0,0001$, $P > 0,90$). El coeficiente de la regresión común y la tasa de crecimiento de los datos agrupados fueron $0,07 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\text{DE} = 0,02$) (Figura 5).

Se comparó el diámetro medio agrupado de los otolitos en cada intervalo de muestreo entre tratamientos de temperatura (Tabla 2) y no fueron significativamente diferentes ($P > 0,10$). Se ajustaron modelos lineales ($P < 0,0001$) a los datos medios de tamaño a edad basados en otolitos para cada replicado en cada grupo de temperatura entre 0,5 y 4,0 días después de la eclosión y no hubo una falta de ajuste significativa para ninguno de los dos modelos con base en mediciones repetidas a edad ($P > 0,05$). Las tasas de crecimiento fueron $1,99 \text{ }\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\text{DE} = 0,13$) y $2,13 \text{ }\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\text{DE} = 0,14$) para los otolitos de las larvas en los tratamientos de 26°C y 29°C , respectivamente. Las tasas de crecimiento promedios ajustados no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos (ANCOVA, $P > 0,30$), y el coeficiente de regresión común fue $2,05 \text{ }\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$. No obstante, la forma de la curva de crecimiento de los otolitos fue más aparente cuando todos los datos fueron agrupados, y fue descrita mejor por una función de potencia (Figura 6).

La trayectoria de crecimiento de la relación entre talla del pez y tamaño del otolito fue difícil de determinar debido a la gran varianza en las tallas a edad en el corto intervalo de tiempo examinado (4 días) (Figura 7). La talla de notocordio varió por $\pm 0,05$ a $0,22 \text{ mm}$ DE para un diámetro de otolito dado. No fue posible ajustar adecuadamente modelos de crecimiento a los datos de cada tratamiento de temperatura, por lo que no se realizaron comparaciones por temperatura de las relaciones de crecimiento somático y de los otolitos. Además, este tipo de comparación sería de poca importancia, considerando que las tasas de crecimiento fueron similares entre los dos tratamientos de temperatura.

El tamaño medio a 5 días después de la eclosión (3 días de alimentación) fue también comparado entre larvas alimentadas con una dieta exclusiva de zooplancton silvestre y aquellas alimentadas con rotíferos solamente. El tamaño medio de las larvas fue $3,42 \text{ mm}$ ($\text{DE} = 0,13$) para la primera dieta y $3,59 \text{ mm}$ ($\text{DE} = 0,24$) para la segunda, y no fueron significativamente diferentes (ANOVA, $F_{0,05(1),1,18} = 4,29$, $P > 0,05$).

Larvas en etapas temprana y tardía

Se agruparon los datos de medición de las larvas del experimento de temperatura con los datos de las larvas de mayor edad criadas en agua de la bahía a temperatura ambiental, para poder examinar el crecimiento en el rango de edades extendido. Aunque el número de larvas mayores fue limitado, se usaron tres escalones de crecimiento lineal para describir los datos de talla a edad para todas las larvas de etapa temprana y tardía de entre 0,5 y 24,0 días de edad (Figura 7), porque la distribución de los datos no fue continua más allá de los 6 días de edad y los modelos no lineales, tales como las funciones de Richards y Gompertz, no se ajustaron bien a los datos. Se determinaron los segmentos lineales y puntos de intersección mediante el ajuste de líneas rectas a varios segmentos de los datos, probando por falta de ajuste significativa por puro error, y examinando los residuales para desviaciones de la normalidad. Se decidió forzar a las tres líneas a intersectarse a las edades de 5 y 16 días (Figura 7; Tabla 3). Se usó la ecuación de regresión del primer escalón de crecimiento, ajustada sin restricciones, para constreñir la estimación de los parámetros del segundo escalón prediciendo el tamaño a edad 5, restando ese tamaño de los tamaños en el segundo escalón de crecimiento, restando la edad 5 de las edades en el segundo escalón de crecimiento, y realizando una regresión de los tamaños ajustados sobre las edades ajustadas, sin un término de intercepto, para estimar la pendiente de la segunda línea.

Se calculó entonces el intercepto de la segunda línea a partir de la pendiente estimada y el tamaño predicho a edad 5. Se estimaron los parámetros del tercer segmento de la misma manera, usando la ecuación de regresión de los datos del segundo escalón de crecimiento pero usando el tamaño predicho a edad 16. Se determinaron las estimaciones de varianza de los parámetros para cada segmento lineal restringido con 5.000 estimaciones de *bootstrap* (Efron, 1982; Efron y Tibshirani, 1993) (Tabla 3). Se realizó el procedimiento de *bootstrap* mediante un muestreo, con reemplazo, dentro de cada distribución para una edad dada. Los valores medios de los parámetros obtenidos de las 5.000 estimaciones de *bootstrap* (Tabla 3) fueron similares a los parámetros estimados con regresión lineal, y las 5.000 estimaciones estuvieron distribuidas de forma razonable y normal.

Se determinaron las tasas de crecimiento de larvas de etapa temprana y tardía a partir de las pendientes estimadas para cada uno de los tres escalones de crecimiento (Tabla 3). El crecimiento en talla de las larvas fue lento y lineal de los 0,5 a los 5,0 días después de la eclosión, con una tasa de crecimiento de $0,07 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ (DE = 0,01). Las larvas de entre 6 y 16 días de edad crecieron más rápidamente, y el crecimiento fue lineal con una tasa de $0,27 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ (DE = 0,01). Ocurrió poco o ningún crecimiento entre 16 y 24 días (es decir, la regresión no fue significativa y la pendiente no fue significativamente diferente a 0 ($P > 0,25$)), y quedaron pocos supervivientes.

El crecimiento de los otolitos para el rango extendido de datos fue caracterizado por un modelo de crecimiento de dos etapas (Figura 8; Tabla 4). Se estimaron el punto de intersección a los 6 días y los parámetros de regresión de forma similar a lo descrito anteriormente para los datos de talla a edad, excepto que la primera etapa entre 0,5 y 6,0 días de edad no fue lineal y fue mejor descrita por una función de potencia. Entre 6,0 y 24,0 días el crecimiento de los otolitos aumentó de forma lineal a $3,4 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ (DE = 0,47), a pesar de que la tasa de crecimiento somático en talla entre 16 y 24 días de edad fue menor (Figura 7). Los valores medios de los parámetros obtenidos de las 5.000 estimaciones de *bootstrap* fueron similares a los parámetros estimados con los modelos de regresión (Tabla 4).

DISCUSION

Crecimiento de los incrementos en los otolitos

Saber cuándo se forma el primer incremento en los otolitos y la tasa de deposición de incrementos es esencial para la determinación correcta de la edad y para retrocalcular estimaciones del tamaño del cuerpo a edades previas. Pudimos determinar que se forma el primer incremento en los otolitos del aleta amarilla a las 12 horas de la eclosión y que los incrementos subsiguientes se forman a diario durante los 16 primeros días después de la eclosión. Ya que la eclosión de larvas de aleta amarilla ocurrió entre las 1600 y 2000 horas, el primer incremento ya estuvo formado en el momento de eclosión o se estuvo formando hasta el alba del día siguiente (aproximadamente 12 horas más tarde). Los incrementos subsiguientes fueron formados aparentemente a intervalos de 24 horas indicando un ritmo circadiano que posiblemente esté determinado por el fotoperíodo (reviso en Campana y Nielson, 1985). Se han validado incrementos diarios en los otolitos durante el desarrollo temprano en solamente dos otras especies de escómbridos: barriletes (*Katsuwonus pelamis*) larvales durante los 5 primeros días después de la eclosión (aunque el primer incremento no se formó hasta un día después de la eclosión) (Radtko, 1983), y barriletes negros (*Euthynnus lineatus*) en etapas de posflexión y juvenil temprana (Wexler 1993). En larvas de barrilete negro de edad conocida criadas desde la eclosión, el primer incremento en los otolitos estuvo completamente formado en el momento de eclosión, y los incrementos subsiguientes estuvieron completamente formados cada mañana posterior a las primeras 24 horas después de la eclosión (Bayliff, 1997). Se ha sugerido la posibilidad de que las especies de atunes tropicales con patrones similares de desarrollo temprano presenten patrones similares de incrementos en los otolitos (Brothers *et al.*, 1983). El desarrollo temprano de los atunes, en general, es caracterizado por la corta duración de las etapas durante las fases embrionaria y larval; la alimentación

exógena ocurre 2-3 días después de la eclosión cuando los ojos están completamente pigmentados y la boca funciona plenamente (Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Ueyanagi *et al.*, 1973; Inoue *et al.*, 1974; Margulies *et al.*, 2001). Aunque los incrementos en los otolitos son depositados diariamente después del primer día de eclosión en las especies de escómbridos estudiadas, el momento de formación del primer incremento varía. Esto señala la necesidad de establecer las características del crecimiento de los otolitos para cada especie para poder aplicar el análisis de los otolitos con precisión.

La tasa de deposición de incrementos en las larvas de aleta amarilla fue significativamente menos de uno por día cuando se incluyeron las larvas de 24 días de edad en el análisis. Es posible que se haya interrumpido el crecimiento diario de los incrementos, pero parece más probable que no hayan sido detectados algunos de los incrementos más finos en el núcleo de los otolitos. El proceso de pulir y grabar los otolitos puede fácilmente destruir incrementos en esta región mal definida (Figura 3) del otolito. Se observan incrementos apenas visibles y estrechos con mayor frecuencia en larvas criadas en el laboratorio que en las que se capturan en el mar (Bailey, 1982; Tsuji y Aoyama, 1982; Campana *et al.*, 1987; Jones y Brothers, 1987; Jenkins *et al.*, 1993; Kingsford y Atkinson, 1994), indicando que las condiciones de cría en el ambiente del laboratorio no son óptimas. Es probable que ocurran tasas de deposición diaria en larvas de hasta 24 días de edad, en el laboratorio y en el mar, pero serán necesarios más estudios de laboratorio para verificarlo. Dado que los incrementos son formados diariamente en aletas amarillas ya reclutados marcados con tetraciclina y recapturados en el ambiente pelágico (Wild y Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995), las tasas de deposición de incrementos en larvas de hasta 16 días de edad observadas en este estudio son probablemente indicativas de tasas de deposición similares en larvas en el mar.

Varios estudios han demostrado una asociación estrecha entre el crecimiento de los peces y los espacios entre los incrementos en los otolitos (por ejemplo, Wilson y Larkin, 1982; Volk *et al.*, 1984; Govoni *et al.*, 1985; Bailey y Stehr, 1988). Típicamente, se observan incrementos muy juntos, que a menudo no pueden ser distinguidos con microscopio de luz, en larvas de crecimiento lento (por ejemplo, Bailey y Stehr, 1988; Butler *et al.*, 1995). El crecimiento lento observado en las larvas de aleta amarilla durante los 5 primeros días después de la eclosión en nuestro experimento fue también reflejado en espacios estrechos entre los incrementos cerca del núcleo en los otolitos pero no en el margen exterior de larvas de 16 a 24 días de edad cuando el crecimiento somático también se vuelve más lento (Figuras 3-4 y 7). Es posible que ocurran las diferencias en el período de reacción en el crecimiento somático y de los otolitos (Figuras 7-8) cuando se usa el metabolismo de las reservas de energía almacenadas para mantener un crecimiento limitado de tejido duro durante períodos de inanición (Marshall y Parker, 1982; Neilson y Geen, 1985). El aspecto general de las larvas de mayor edad en nuestro estudio indicó que estaban en malas condiciones; por lo tanto, es posible que falta de alimento sea en parte responsable de la diferencia entre el crecimiento somático y de los otolitos. No obstante, los datos para las larvas mayores en nuestro estudio son demasiado limitados para permitir hacer inferencias en este momento y en experimentos futuros será necesario examinar la relación entre el crecimiento somático y de los otolitos más estrechamente a nivel individual y diario. De todos modos, nuestros resultados podrían todavía sugerir que el crecimiento de los otolitos está solamente parcialmente correlacionado con el crecimiento somático, y es posible que no corresponda a cambios a corto plazo en el crecimiento de los peces asociado con cambios ambientales o específicos por etapa (Bradford y Geen, 1992; Milichich y Choat, 1992; Gallego y Heath, 1997).

Efectos de la temperatura sobre desarrollo, supervivencia, y crecimiento

La mayoría de los huevos fertilizados en nuestro experimento se desarrollaron normalmente en ambos tratamientos de temperatura, a pesar de la baja supervivencia de las larvas en primera alimentación. El tamaño de los huevos (diámetro 0,93-1,00 mm) cae dentro del rango de tamaños reportado para los huevos de aletas amarillas (0,90-1,04 mm) criados en otros experimentos de laboratorio

(Harada *et al.*, 1971; Mori *et al.*, 1971; Harada *et al.*, 1980a; Harada *et al.*, 1980b), y para otros miembros de la tribu de los Thunnini (0,84-1,23 mm) del Océano Pacífico (Ambrose, 1996).

El tamaño de las larvas en eclosión es determinado por el tamaño del huevo (Blaxter, 1969) y la eficacia de la utilización de la yema, que pueden ser afectados por la temperatura (Theilacker y Dorsey, 1980). En nuestro experimento, las larvas en eclosión del tratamiento de temperatura baja fueron significativamente más pequeñas que aquéllas del tratamiento de alta temperatura y de huevos desovados en octubre e incubados en un rango comparable de temperaturas bajas. Los huevos de nuestro tratamiento de temperatura baja pasaron por una disminución de temperatura de hasta 2,6°C cuando fueron trasladados poco después del desove de agua a 28,4°C a un régimen controlado de temperatura más baja en el laboratorio. El cambio repentino en la temperatura durante la incubación puede haber afectado la tasa de utilización de la yema para las necesidades metabólicas y la tasa de conversión de yema en tejido larval (Blaxter y Hempel, 1966; Alderdice y Velsen, 1971; Howell y Caldwell, 1984), resultando en el menor tamaño de eclosión. Sin embargo, serían necesarios más experimentos para confirmarlo, y mediciones adicionales del crecimiento, especialmente información sobre el peso seco. Ecológicamente, la diferencia en el tamaño de eclosión probablemente no es importante, considerando que el tamaño medio de las larvas en primera alimentación (en absorción del saco vitelino) no fue significativamente diferente entre los dos tratamientos de temperatura.

En general, la supervivencia de las larvas en primera alimentación fue pobre. Las huevos y larvas usados en este experimento y el siguiente (Margulies, *et al.*, 2001) fueron desovados cerca del fin de la temporada de desove, y es posible que fueron menos viables que aquéllos desovados antes en la temporada (S. Masuma, *observ. pers.*). Las larvas criadas a 26°C probablemente utilizaron sus reservas endógenas de energía más lentamente y se alimentaron bajo constreñimientos metabólicos menores que aquéllos a temperatura más alta, resultando en estimaciones de supervivencia más elevadas, aunque no significativamente más elevadas, para la corta duración del experimento. No hubo evidencia que sugiriera que una dieta de presas no naturales (es decir, rotíferos) durante la primera alimentación ni el pequeño tamaño del tanque de cría (Geffen, 1995) resultara en supervivencia pobre o crecimiento más lento. Se obtuvieron estimaciones similares de supervivencia y crecimiento (Margulies, *et al.*, 2001; Margulies y Wexler, *observ. pers.*) para larvas criadas en tanques de cría más grandes de 300 L de volumen y alimentadas con una dieta de zooplancton silvestre (predominantemente nauplios de copépodo) durante un experimento de selectividad de alimento realizado el mes siguiente (Margulies, *et al.*, 2001). Además, cuando las larvas en nuestro estudio fueron alimentadas con tipos de presa diferentes, el tamaño medio de las larvas alimentadas con una dieta de zooplancton natural fue similar al de las larvas alimentadas con una dieta artificial de rotíferos después de los 3 primeros días de alimentación.

Pese al desarrollo más rápido de las larvas en el tratamiento de 29°C, las tasas de crecimiento somático y de los otolitos de las larvas conservadas en etanol no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos de temperatura. El crecimiento en talla fue lento para ambos tratamientos durante los cuatro primeros días después de la eclosión. Lang *et al.*, (1994), sin embargo, reportaron que las tasas de crecimiento somático de larvas de aleta amarilla eran afectadas de forma significativa por la temperatura hasta en el rango estrecho de temperaturas en el mar (28,5° a 30,4°C), con la temperatura óptima para el crecimiento alrededor de 29,4°C. A niveles altos de alimento óptimo hubiéramos también esperado una diferencia en las tasas de crecimiento entre larvas criadas en distintos tratamientos de temperatura, pero es posible que no haya ocurrido una diferencia hasta varios días después de la alimentación. Los efectos de la temperatura sobre el crecimiento de larvas de caballa del Pacífico (*Scomber japonicus*) entre 16,8° y 22,1°C (Hunter y Kimbrell, 1980) y de lubina blanca (*Morone americana*) entre 13° y 21°C (Margulies, 1989) tampoco fueron detectables durante los primeros días de alimentación hasta aproximadamente 10 días después de la eclosión. Es posible que incrementos en la talla o peso de peces larvales no sean aparentes hasta que las reservas de energía almacenadas estén completamente agotadas y aumenten las demandas energéticas; se logra entonces un crecimiento más

rápido gracias al mayor consumo de alimento requerido a temperaturas más elevadas (Houde, 1989). Es posible que el peso seco sea un mejor indicador del crecimiento durante la primera alimentación y metamorfosis que la talla porque el crecimiento en talla no proporciona ninguna información sobre la condición de las larvas (Blaxter, 1969). En todo caso, la talla media y peso seco de larvas de corvinón ocelado (*Sciaenops ocellatus*) (Lee *et al.*, 1984) incubadas y criadas a distintas temperaturas fueron similares hasta varios días después del comienzo de alimentación activa. Es posible que también hubiesen ocurrido diferencias en las tasas de crecimiento de las larvas de aleta amarilla de distintas temperaturas posteriormente a los 4 días después de la eclosión (después de 2-2,5 días de alimentación), pero no fue posible examinarlo debido a la corta duración del experimento.

Antes de poder estimar el historial de crecimiento individual de larvas capturadas en el mar a partir de mediciones del ancho de los incrementos, la reacción del crecimiento de los otolitos a cambios en el crecimiento somático necesita ser validada a nivel diario. En nuestro estudio no se detectó una reacción a corto plazo de las tasas de crecimiento somático y de los otolitos a distintas temperaturas. Las tasas de crecimiento de las larvas en cada tratamiento de temperatura fueron similares en el rango de edades limitado que se examinó. El diámetro de los otolitos y la tasa de crecimiento medios tampoco fueron significativamente diferentes entre los tratamientos (Tabla 2). Sería por lo tanto inútil intentar validar el aumento o disminución en la distancia entre los incrementos en reacción o diferencias en el crecimiento somático cuando las tasas de crecimiento no fueron significativamente diferentes. Se ha propuesto que los procesos metabólicos en reacción a temperatura controlan el crecimiento de los otolitos y el patrón de distancia entre los incrementos (Mosegaard y Titus, 1987; Mosegaard *et al.*, 1988; Bradford y Geen, 1992; Hoff y Fuiman, 1993), pero esto no fue aparente en nuestro estudio. Será necesario realizar más experimentos con larvas en alimentación que incorporen distintos regímenes de temperatura durante períodos de tiempo más largos para examinar el crecimiento de los otolitos en reacción a cambios en el crecimiento somático.

Crecimiento larval y larval tardío

Las tasas de crecimiento somático obtenidas en este estudio fueron similares a las de larvas de aleta amarilla criadas en otros experimentos de laboratorio. En nuestro estudio, la tasa de crecimiento máxima de $0,27 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ fue comparable a las tasas de crecimiento obtenidas para larvas de edad similar criadas en el laboratorio por Harada *et al.* (1971) (aprox. $0,31 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$) y Mori *et al.* (1971) (aprox. $0,30 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$). No obstante, estas tasas son inferiores a la tasa de crecimiento de $0,47 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ estimada para larvas de aleta amarilla capturadas en el mar de un rango de edad similar (Lang *et al.*, 1994). Fue señalado un crecimiento subóptimo en el laboratorio por nuestras observaciones de desnutrición y el menor tamaño de las larvas comparadas con escómbridos de un rango de edad similar capturados en el mar (Jenkins y Davis, 1990; Wexler, 1993; Lang *et al.*, 1994). La supervivencia pobre, mala condición, y crecimiento más lento durante este periodo de desarrollo en el laboratorio podrían estar asociados con la alimentación con presas de tipo no natural y/o limitado (Taniguchi, 1982; Margulies *et al.*, 2001), con condiciones físicas tales como el tamaño o tipo del tanque, y niveles de luz y oxígeno (Theilacker y Dorsey, 1980; Hales y Able, 1995; Geffen, 1995; Henny *et al.*, 1995), o con una densidad anormalmente elevada de las larvas, que causaría tasas bajas de conversión de alimento (Blaxter, 1975). Típicamente, las larvas de escómbrido se alimentan con microzooplancton durante las etapas larvales tempranas y se vuelven piscívoras y canibalísticas durante las etapas de posflexión y juvenil temprana (Mayo, 1973; Hunter y Kimbrell, 1980; Jenkins *et al.*, 1984; Finucane, *et al.*, 1990; Olson y Scholey, 1990; Young y Davis, 1990; Margulies, 1993; Wexler, 1993); es por lo tanto posible que una dieta de zooplancton y peces proporcione una mayor ventaja de crecimiento durante la cría en el laboratorio que presas cultivadas no naturales. Larvas de aleta amarilla en etapa de posflexión y transformación criadas en el laboratorio han reaccionado con un crecimiento exponencial en talla a la introducción de una dieta de larvas de peces unos 15 días después de la eclosión (Kaji *et al.*, 1999; CIAT, *datos inéditos*). Una tasa de crecimiento más lenta en el laboratorio

podría también estar relacionada con la ausencia de mortalidad por depredación, que permitiría a los especímenes de crecimiento más lento sobrevivir. Una mayor varianza en el tamaño a edad de larvas criadas en comparación con larvas silvestres sugiere que la mortalidad por depredación es mayor para las larvas en el mar (Kingsford y Atkinson, 1994). Sin embargo, en nuestro estudio la variación en talla a edad fue menor que la de larvas de aleta amarilla capturadas en el mar (Lang *et al.*, 1994). La menor variación en tamaño de las larvas de nuestro estudio está probablemente asociada con la alta tasa de mortalidad y una fuente insuficiente de alimento. Aunque hubo pocas muestras de larvas de entre 10 y 24 días de edad, el tamaño de las larvas muestreadas fue representativo de los supervivientes restantes en el tanque. No descartamos la posibilidad de que el crecimiento más lento de larvas de aleta amarilla criadas en el laboratorio esté asociado con la ausencia de depredación, pero el crecimiento más lento que observamos refleja probablemente condiciones de crecimiento subóptimas en el laboratorio.

Los atunes tropicales demuestran el potencial de tasas de crecimiento variables durante las etapas larval y juvenil temprana, considerando las tasas rápidas de desarrollo que ocurren y las altas tasas de ingestión necesarias para sobrevivir en aguas cálidas oceánicas y costeras (por ejemplo, Jenkins *et al.*, 1991; Wexler 1993; Lang *et al.*, 1994). Es posible que las tasas de crecimiento de las larvas de aleta amarilla en el Océano Pacífico sean altamente variables, considerando que muchas de las regiones tropicales y subtropicales donde se han capturado cantidades importantes de larvas de aleta amarilla (Klawe, 1963; Suzuki *et al.*, 1978; Leis *et al.*, 1991; Boehlert y Mundy, 1994) son caracterizadas por aguas bastante productivas cuya productividad varía con la temporada del año (Blackburn *et al.*, 1970; Owen y Zeitzschel, 1970; Fiedler *et al.*, 1991). El desove de aleta amarilla ocurre durante todo el año y casi a diario en todas las zonas del Océano Pacífico oriental (y posiblemente del Océano Pacífico entero) en las que la temperatura superficial del agua es más de 26°C (Bayliff, 1994; Schaefer, 1996). Las tasas de fecundidad del aleta amarilla son muy altas (Joseph, 1963; McPherson, 1991; Schaefer, 1996), pero las tasas de mortalidad larval son asimismo muy altas (Lang *et al.*, 1994). La dinámica de manchas y las tasas de encuentro de organismos de presa abundantes por las larvas (Margulies *et al.*, 2001) podrían ser factores importantes que limitan el crecimiento y la supervivencia de las larvas de aleta amarilla en el Océano Pacífico. Un muestreo a pequeña escala de microplancton (Owen, 1981; Jenkins, 1988; Owen, 1989) en el ambiente de alimentación de las larvas de aleta amarilla proporcionaría tal vez información esencial sobre la distribución y dinámica de manchas de presas importantes. Además, mediciones *in situ* y en el laboratorio de la variabilidad del crecimiento, la mortalidad por tamaño, la incidencia de alimentación, y la dinámica de procesos físicos brindarían posiblemente ciertos conocimientos de los mecanismos que causan tasas de mortalidad elevadas en las larvas del atún aleta amarilla.

En resumen, los resultados de este estudio representan la primera confirmación de la formación de incrementos diarios en los otolitos de larvas de atún aleta amarilla durante los 16 primeros días después de la eclosión. Se han validado ahora incrementos diarios en los otolitos de aletas amarillas durante las etapas tempranas del ciclo vital y en el rango de tamaños de 25 a 148 cm TF (Wild y Foreman, 1980; Yamanaka, 1990; Wild *et al.*, 1995). La validación sobre este extenso rango de tamaños brinda la información básica necesaria para determinar la edad y tasa de crecimiento de aletas amarillas antes y después del reclutamiento. La confirmación adicional de tasas diarias de deposición en los otolitos de larvas y juveniles de entre 16 días de edad y 25 cm TF permitiría estimaciones confiables de la edad de peces de hasta 148 cm de talla. Pese al desarrollo más rápido de los huevos y larvas criados a 29°C, no se detectaron diferencias en las tasas de crecimiento de larvas de aleta amarilla ni de sus otolitos durante la etapa de saco vitelino y el comienzo de la primera alimentación en el rango de temperaturas examinado. Es posible que sean más aparentes diferencias en el crecimiento después del comienzo de la primera alimentación y se necesita explorar los efectos de la temperatura sobre el crecimiento después de este período. Además, se debería validar a nivel individual el crecimiento de los otolitos en reacción a cambios en el crecimiento somático antes de aplicar procedimientos de retrocálculo. Nuestro estudio

proporciona un análisis inicial del crecimiento de aletas amarillas larvales en reacción a regímenes de temperatura controlada, y establece una base para la investigación futura de los factores que afectan la variabilidad del crecimiento y la supervivencia de las larvas de atún aleta amarilla.

RECONOCIMIENTOS

Reconocemos con agradecimiento la Overseas Fishery Cooperation Foundation y la Federation of Japan Tuna Fisheries Co-operative Associations por su apoyo financiero que posibilitó esta investigación colaborativa. Reconocemos especialmente el apoyo y ayuda de A. Suda (Japan Tuna) y N. Ishibashi (JASFA). Quisiéramos expresar nuestro agradecimiento también al personal técnico de JASFA, y a J. Butler y K. Dahlin por sus sugerencias con respecto a la preparación de microotolitos y por el uso de su equipo. K. Dahlin también proporcionó apoyo técnico con el MEB. Las discusiones con A. Wild, K. Schaefer, y P. Tomlinson fueron muy valiosas. P. Tomlinson proporcionó asesoría estadística y programas de FORTRAN para las estimaciones de *bootstrap*. Los comentarios de B. Bayliff, G. Boehlert, T. Davis, R. Deriso, R. Olson, K. Schaefer, y P. Tomlinson sobre el manuscrito fueron muy útiles. N. Webb hizo la traducción al español, y G. Tapper la ilustración en la Figura 1. Agradecemos también a los Directores antiguo y actual de la CIAT, James Joseph y Robin Allen, y al Científico Jefe del Programa Atún-Picudo, Rick Deriso, su apoyo de esta investigación colaborativa.

LITERATURE CITED - BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alderdice, D.F. and F.P.J. Velsen. 1971. Some effects of salinity and temperature on early development of Pacific herring (*Clupea pallasii*). J. Fish. Res. Bd. Canada 28: 1545-1562.
- Ambrose, D.A. 1996. Scombridae: Mackerels and tunas. In H.G. Moser (editor). Guide to the early stages of fishes in the California Current region. Calif. Coop. Ocean. Fish. Inves., CALCOFI Atlas No. 33: 1270-1285.
- Bailey, K.M. 1982. The early life history of Pacific hake. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 80: 589-598.
- Bailey, K.M. and C.L. Stehr. 1988. The effects of feeding periodicity and ration on the rate of increment formation in otoliths of larval walleye pollock *Theragra chalcogramma* (Pallas). J. Exp. Mar. Biol. 7: 14-31.
- Bayliff, W. (editor). 1994. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1993: 29-30; Fig. 25.
- Bayliff, W. (editor). 1997. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1995: 34-35.
- Bayliff, W. (editor). 1998. Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission 1996: 32.
- Blackburn, M., R.M. Laurs, R.W. Owen, and B. Zeitzschel. 1970. Seasonal and areal changes in standing stocks of phytoplankton, zooplankton and micronekton in the eastern tropical Pacific. Mar. Biol. 7: 14-31.
- Blaxter, J.H.S. and G. Hempel, 1966. Utilization of yolk by herring larvae. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 46: 219-234.
- Blaxter, J.H.S. 1969. Development: eggs and larvae. In S. Hoar and D.J. Randall (editors). Fish Physiology. Academic Press Inc., New York: 177-252.

- Blaxter, J.H.S. 1975. Reared and wild fish—How do they compare? *In* G. Persoone and E. Jaspers (editors). 10th European Symp. Mar. Biol., Ostend, Belgium, Sept. 17-23, Vol. 1. Universa Press, Wetteren, Belgium: 11-26.
- Boehlert, G.W. 1981. Ontogenetic changes in growth and their relationship with temperature and habitat change. *In* G.M. Cailliet and C.A. Simenstad (editors). Gutshop '81 fish food habits studies. Proceedings of the third Pacific workshop. Washington Sea Grant Publication. Seattle, Washington: 115-123.
- Boehlert, G.W. and B.C. Mundy. 1994. Vertical and onshore-offshore distributional patterns of tuna larvae in relation to physical habitat features. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 107: 1-13.
- Bradford, M.J. and G.H. Geen. 1992. Growth estimates from otolith increment widths of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared in changing environments. *J. Fish Biol.* 41: 825-832.
- Brothers, E.B., E.D. Prince, and D.W. Lee. 1983. Age and growth of young-of-the-year bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from otolith microstructure. U.S. Nat. Oceanic Atmos. Adm., Tech. Rep. Nat. Mar. Fish. Serv., Circ. 8: 49-59.
- Butler, J. 1989. Growth during the larval and juvenile stages of the northern anchovy, *Engraulis mordax*, in the California Current during 1980-84. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 87: 645-652.
- Butler, J., K.A. Dahlin, and H.G. Moser. 1996. Growth and duration of the planktonic phase and a stage-based matrix of dover sole, *Microstomus pacificus*. *Bull. Mar. Sci.* 58: 29-43.
- Campana, S.E. 1990. How reliable are growth back-calculations based on otoliths? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 2219-2227.
- Campana, S.E., J.A. Gagné, and J. Munro. 1987. Otolith microstructure of larval herring (*Clupea harengus*): image or reality? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 1922-1929.
- Campana, S.E. and J.D. Neilson. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 1014-1032.
- Casselman, J.M. 1990. Growth and relative size of calcified structures of fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119: 673-688.
- Crecco, V.A. and T.F. Savoy. 1985. Effects of biotic and abiotic factors on growth and relative survival of young American shad, *Alosa sapidissima*, in the Connecticut River. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 1640-1648.
- Efron, B. 1982. The jackknife, the bootstrap and other resampling plans. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, PA: 95 pp.
- Efron, B. and R.J. Tibshirani. 1993. An introduction to the bootstrap. Chapman and Hall, New York, NY: 436 pp.
- Fiedler, P.C., V. Philbrick, and F.P. Chavez. 1991. Oceanic upwelling and productivity in the eastern tropical Pacific. *Limnol. Oceanogr.* 36: 1834-1850.
- Finucane, J.H., C.B. Grimes, and S.P. Naughton. 1990. Diets of young king and Spanish mackerel off the Southeast United States. *Northeast Gulf Sci.* 11: 145-153.
- Fowler, G.M. and S.J. Smith. 1983. Length changes in silver hake (*Merluccius bilinearis*) larvae: effects of formalin, ethanol, and freezing. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 866-870.

- Gallego, A. and M. Heath. 1997. The effect of growth-dependent mortality, external environment and internal dynamics on larval fish otolith growth: an individual-based modelling approach. *J. Fish Biol.* 51(Supplement A): 121-134.
- Geffen, A.J. 1995. Growth and otolith microstructure of cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *J. Plankton Res.* 17(4): 783-800.
- Govoni, J.J., A.J. Chester, D.E. Hoss, and P.B. Ortner. 1985. An observation of episodic feeding and growth of larval *Leiostomus xanthurus* in the northern Gulf of Mexico. *J. Plankton Res.* 7: 137-146.
- Hales, L.S. and K.W. Able. 1995. Effects of oxygen concentration on somatic and otolith growth rates of juvenile black sea bass, *Centropristis striata*. In D.H. Secor, J.M. Dean, and S.E. Campana (editors). *Recent Developments in Fish Otolith Research*. Univ. South Carolina Press, Columbia, S.C.: 135-153.
- Harada, T., S. Miyashita, and H. Yoneshima. 1980b. Effect of water temperature on yellowfin tuna hatching. *Memoir, Fac. Agric., Kinki Univ., Japan* 13: 29-32.
- Harada, T., O. Murata, and S. Oda. 1980a. Rearing and morphological changes in larvae and juveniles of yellowfin tuna. *Kinki Univ. Fac. Agric. Bull.* 13: 33-36. [Engl. transl. no. 51 by T. Otsu, 1980, 8 pp., avail. Honolulu Lab, Southwest Fish. Sci. Cent., Nat. Mar. Fish. Serv., NOAA, Honolulu, HI 96822-2396].
- Harada, T.O., S. Ueyanagi, and Y. Nishikawa. 1971. The development of artificially fertilized and reared larvae of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Bull. Far Seas Fish. Res. Lab.* 5: 219-232.
- Henny, D.C., G.J. Holt, and C.M. Riley. 1995. Recirculating-water system for the culture of marine tropical fish larvae. *The Progressive Fish-Culturist* 57: 219-225.
- Hoff, G.R. and L.A. Fuiman. Morphometry and composition of red drum otoliths: changes associated with temperature, somatic growth rate, and age. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A: 209-219.
- Houde, E.D. 1974. Effects of temperature and delayed feeding on growth and survival of larvae of three species of subtropical marine fishes. *Mar. Biol.* 26: 271-285.
- Houde, E.D. 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symp.* 2: 17-29.
- Houde, E.D. 1989. Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. *U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull.* 87: 471-495.
- Houde, E.D. 1994. Differences between marine and freshwater fish larvae: implications for recruitment. *ICES J. Mar. Sci.* 51: 91-97.
- Howell, W.H. and M.A. Caldwell. 1984. Influence of temperature on energy utilization and growth of embryonic and prolarval American plaice, *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 79: 173-189.
- Hunter, J.R. and C.M. Kimbrell. 1980. Early life history of Pacific mackerel, *Scomber japonicus*. *U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull.* 78: 89-101.
- Inoue, M., K. Tutumi, H. Nagaoka, and T. Nagata. 1974. Some notes on the artificial fertilization and rearing of larvae in the skipjack tuna. *J. Fac. Mar. Sci. Tech., Tokai Univ.* 8: 37-42.
- Jenkins, G.P. 1988. Micro- and fine-scale distribution of microplankton in the feeding environment of larval flounder. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 43: 233-244.

- Jenkins, G.P. and T.L.O. Davis. 1990. Age, growth rate, and growth trajectory determined from otolith microstructure of southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 63: 93-104.
- Jenkins, G.P., N.E. Milward, and R.F. Hartwick. 1984. Food of larvae of Spanish mackerels, genus *Scomberomorus* (Teleostei: Scombridae), in shelf waters of the Great Barrier Reef. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 35: 477-482.
- Jenkins, G.P., M. Shaw, and B.D. Stewart. 1993. Spatial variation in food-limited growth of juvenile greenback flounder, *Rhombosolea tapirina*: evidence from otolith daily increments and otolith scaling. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50: 2558-2567.
- Jenkins, G.P., J.W. Young, and T.L.O. Davis. 1991. Density dependence of larval growth of a marine fish, the southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 1358-1363.
- Jennings, S. 1991. The effects of capture, net retention and preservation upon lengths of larval and juvenile bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). J. Fish Biol. 38: 349-357.
- Jones, C. 1986. Determining age of larval fish with the otolith increment technique. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 84: 91-103.
- Jones, C. and E.B. Brothers. 1987. Validation of the otolith increment aging technique for striped bass, *Morone saxatilis*, larvae reared under suboptimal feeding conditions. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 85: 171-178.
- Joseph, J. 1963. The fecundity of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and skipjack (*Katsuwonus pelamis*) from the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 7: 255-292.
- Kaji, T., M. Tanaka, M. Oka, H. Takeuchi, S. Ohsumi, K. Teruya, and J. Hirokawa. 1999. Growth and morphological development of laboratory-reared yellowfin tuna *Thunnus albacares* larvae and early juveniles, with special emphasis on the digestive system. Fisheries Sci. 65: 700-707.
- Kingsford, M.J. and M.H. Atkinson. 1994. Increments in otoliths and scales: how they relate to the age and early development of reared and wild larval and juvenile *Pagrus auratus* (Sparidae). Aust. J. Mar. Freshw. Res. 45: 1007-1021.
- Klawe, W.L. 1963. Observations on the spawning of four species of tuna (*Neothunnus macropterus*, *Katsuwonus pelamis*, *Auxis thazard* and *Euthynnus lineatus*) in the eastern Pacific Ocean, based on the distribution of their larvae and juveniles. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 6: 447-540.
- Kruse, G.H. and E.L. Dalley. 1990. Length changes in capelin, *Mallotus villosus* (Muller), larvae due to preservation in formalin and anhydrous alcohol. J. Fish Biol. 36: 619-621.
- Laidig, T.E., S. Ralston, and J.R. Bence. 1991. Dynamics of growth in the early life history of shortbelly rockfish *Sebastes jordani*. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 89: 611-621.
- Lang, K.L. 1991. Variations in the age and growth of larval yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, collected about the Mississippi River plume. M.S. Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas: 73 pp.
- Lang, K.L., C.B. Grimes, and R.F. Shaw. 1994. Variations in the age and growth of yellowfin tuna larvae, *Thunnus albacares*, collected about the Mississippi River plume. Envir. Biol. Fishes 39: 259-270.
- Lee, W.Y., G.J. Holt, and C.R. Arnold. 1984. Growth of red drum larvae in the laboratory. Trans. Amer. Fish. Soc. 113: 243-246.

- Leis, J.M., T. Trnski, M. Harmelin-Vivien, J.P. Renon, V. Dufour, M.K. El Moudni, and R. Galzin. 1991. High concentrations of tuna larvae (Pisces: Scombridae) in near-reef waters of French Polynesia (Society and Tuamotu Islands). *Bull. Mar. Sci.* 48: 150-158.
- Margulies, D. 1989. Effects of food concentration and temperature on development, growth, and survival of white perch, *Morone americana*, eggs and larvae. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 87: 63-72.
- Margulies, D. 1993. Assessment of the nutritional condition of larval and early juvenile tuna and Spanish mackerel (Pisces: Scombridae) in the Panam' Bight. *Mar. Biol.* 115: 317-330.
- Margulies, D., J.B. Wexler, K. Bentler, J.S. Suter, S. Masuma, N. Tezuka, K. Teruya, M. Oka, M. Kanematsu, and H. Nikaido. 2001. Food selection of yellowfin tuna *Thunnus albacares* larvae reared in the laboratory. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 22 (1): 9-51
- Marshall, S.L. and S.S. Parker. 1982. Pattern identification in the microstructure of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 542-547.
- Masuma, S., N. Tezuka, K. Teruya, M. Oka, M. Kanematsu, and H. Nikaido. 1993. Maturation and spawning of reared yellowfin tunas at Yaeyama. Abstracts of the annual meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, Tokyo, Japan, April 2-5, 1993.
- Mayo, C.A. 1973. Rearing, growth, and development of the eggs and larvae of seven scombrid fishes from the Straits of Florida. Ph.D. Dissertation, University of Miami, Coral Gables, Florida: 128 pp.
- McPherson, G.R. 1991. Reproductive biology of yellowfin tuna in the eastern Australian fishing zone, with special reference to the north-western Coral Sea. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 465-477.
- Methot, R.D., Jr. 1981. Spatial covariation of daily growth rates of larval northern anchovy, *Engraulis mordax* and northern lampfish, *Stenobranchius leucopsarus*. *Rapp. P.-V. Réun. Cons. Int. Explor. Mer.* 178: 424-431.
- Milicich, M.J. and J.H. Choat. 1992. Do otoliths record changes in somatic growth rate? Conflicting evidence from a laboratory and field study of a temperate reef fish, *Parika scaber*. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 43: 1203-1214.
- Miller, T.J., L.B. Crowder, J.A. Rice, and E.A. Marschall. 1988. Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1657-1670.
- Moksness, E. 1992. Differences in otolith microstructure and body growth rate of North Sea herring (*Clupea harengus* L.) larvae in the period 1987-1989. *ICES J. Mar. Sci.* 49: 223-230.
- Mori, K. 1970. A consideration on the spawning of the tunas, especially of the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the adjacent sea of the Pacific coast of Japan. *Bull. Far. Seas Fish. Res. Lab.* 3: 215-228.
- Mori, K., S. Ueyanagi, and Y. Nishikawa. 1971. The development of artificially fertilized and reared larvae of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Bull. Far. Seas Fish. Res. Lab.* 5: 219-232.
- Mosegaard, H., H. Svedang, and K. Taberman. 1988. Uncoupling of somatic and otolith growth rates in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) as an effect of differences in temperature response. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1514-1524.
- Mosegaard, H. and R. Titus. 1987. Daily growth rates of otoliths in yolk sac fry, of two salmonids at five different temperatures. In S.O. Kullander and B. Fernholm (editors). *Proc. Fifth Conf. Eur. Ichthyol.* Stockholm, 1985, Swedish Museum of Natural History, Stockholm: 221-227.

- Neilson, J.D. and G.H. Geen. 1985. Effects of feeding regimes and diel temperature cycles on otolith increment formation in juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 83: 91-101.
- Olson, R.J. and V.P. Scholey. 1990. Captive tunas in a tropical marine research laboratory: growth of late-larval and early-juvenile black skipjack *Euthynnus lineatus*. U.S. Nat. Fish. Serv., Fish. Bull. 88: 821-828.
- Owen, R.W. 1981. Microscale plankton patchiness in the larval anchovy environment. Rapp. P.-v. Réun. Cons. inst. Explor. Mer. 178: 364-368.
- Owen, R.W. 1989. Microscale and finescale variations of small plankton in coastal and pelagic environments. J. Mar. Res. 47: 197-240.
- Owen, R.W. and B. Zeitzschel. 1970. Phytoplankton production: seasonal change in the oceanic eastern tropical Pacific. Mar. Biol. 7: 32-36.
- Penney, R.W. and G.T. Evans. 1985. Growth histories of larval redfish (*Sebastes spp.*) on an offshore Atlantic fishing bank determined by otolith increment analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 1452-1464.
- Pepin, P. 1991. Effect of temperature and size on development, mortality, and survival rates of the pelagic early life history stages of marine fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 503-518.
- Radtke, R.L. 1983. Otolith formation and increment deposition in laboratory-reared skipjack tuna, *Euthynnus pelamis*, larvae. U.S. Nat. Oceanic Atmos. Adm., Tech. Rep. Nat. Mar. Fish. Serv. Circ. 8: 99-103.
- Reznick, D., E. Lindbeck, and H. Bryga. 1989. Slower growth results in larger otoliths: an experimental test with guppies (*Poecilia reticulata*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46: 108-112.
- Ricker, W.E. 1969. Effects of size-selective mortality and sampling bias on estimates of growth, mortality, production, and yield. J. Fish. Res. Bd. Can. 26: 479-541.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Fish. Res. Board Can., Bull. 191: 382 pp.
- Schaefer, K.M. 1996. Spawning time, frequency and batch fecundity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from Clipperton atoll in the eastern Pacific Ocean. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull. 94: 98-112.
- Schaefer, K.M. 1998. Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 21: 201-272.
- Secor, D.H. and J.M. Dean. 1989. Somatic growth effects on the otolith-fish size relationship in young pond-reared striped bass, *Morone saxatilis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46: 113-121.
- Secor, D.H. and J.M. Dean. 1992. Comparison of otolith-based back-calculation methods to determine individual growth histories of larval striped bass, *Morone saxatilis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49: 1439-1454.
- Suzuki, Z., P.K. Tomlinson, and M. Honma. 1978. Population structure of Pacific yellowfin tuna. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 17: 277-441.
- Taniguchi, A.K. 1982. Growth efficiency estimates for laboratory-reared larval spotted seatrout fed microzooplankton or rotifers. In C.F. Bryan, J.V. Conner, and F.M. Truesdale (editors). Proc. fifth

annual larval fish conf. Louisiana Cooperative Fishery Research Unit, Louisiana State University, Baton Rouge, LA: 6-11.

- Theilacker, G.H. and K. Dorsey. 1980. Larval fish diversity, a summary of laboratory and field research. *In* G.D. Sharp (rapporteur). Workshop on the effects of environmental variation on the survival of larval pelagic fishes. UNESCO, Int. Oceanogr. Comm. Workshop Rep. 28: 105-142.
- Thorrold, S.R. and D. McB. Williams, 1989. Analysis of otolith microstructure to determine growth histories in larval cohorts of a tropical herring (*Herklotsichthys castelnaui*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 1615-1624.
- Tsuji, S. and T. Aoyama, 1982. Daily increments observed in otoliths of the larvae of Japanese sea bream *Pagrus major* (Temminck et Schlegel). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48: 1559-1562.
- Ueyanagi, S. 1969. Observations on the distribution of tuna larvae in the Indo-Pacific Ocean with emphasis on the delineation of the spawning areas of albacore, *Thunnus alalunga*. *Bull. Far Seas Fish. Res. Lab.* 2: 177-256.
- Ueyanagi, S., K. Mori, Y. Nishikawa, and A. Suda. 1973. Report on experiments on the development of tuna culturing techniques (April, 1970~March, 1973). *S Ser. Far Seas Fish. Res. Lab.* 8: 165 pp.
- Volk, E.C., R.C. Wissmar, C.A. Simenstad, and D.M. Eggers. 1984. Relationship between otolith microstructure and the growth of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) under different prey rations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 126-133.
- Wexler, J.B. 1993. Validation of daily growth increments and estimation of growth rates of larval and early-juvenile black skipjack, *Euthynnus lineatus*, using otoliths. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 20: 399-440.
- Wild, A. and T.J. Foreman. 1980. The relationship between otolith increments and time for yellowfin and skipjack tuna marked with tetracycline. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 17: 507-560.
- Wild, A., J.B. Wexler, and T.J. Foreman. 1995. Extended studies of increment deposition rates in otoliths of yellowfin and skipjack tunas. *Bull. Mar. Sci.* 57: 555-562.
- Wilson, K.H. and P.A. Larkin. 1982. Relationship between thickness of daily growth increments in sagittae and change in body weight of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) fry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 1335-1339.
- Wright, P.J., N.B. Metcalfe, and J.E. Thorpe. 1990. Otolith and somatic growth rates in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L: evidence against coupling. *J. Fish Biol.* 36: 241-249.
- Yamanaka, K.L. 1990. Estimates of age, growth and spawning of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Philippines as determined from the examination of increments on sagittal otoliths. *Indo-Pac. Tuna Develop. Mgmt. Prog., Coll. Vol. Work. Doc.* 3: 27-39.
- Yamasaki, S. and Hirata, H. 1989. Absorption of inorganic and organic nitrogen by *Nannochloropsis* sp. in a practical culture. *Suisanzoshoku* 37: 275-280.
- Young, J.W. and T.L.O. Davis. 1990. Feeding ecology of larvae of southern bluefin, albacore and skipjack tunas (Pisces: Scombridae) in the eastern Indian Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 61: 17-29.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ: 718 pp.

The IATTC's responsibilities are met with two programs, the Tuna-Billfish Program and the Tuna-Dolphin Program. The principal responsibilities of the Tuna-Billfish Program are (1) to study the biology of the tunas and related species of the eastern Pacific Ocean to estimate the effects that fishing and natural factors have on their abundance, (2) to recommend appropriate conservation measures so that the stocks of fish can be maintained at levels which will afford maximum sustainable catches, and (3) to collect information on compliance with Commission resolutions. The principal responsibilities of the Tuna-Dolphin Program are (1) to monitor the abundance of dolphins and their mortality incidental to purse-seine fishing in the eastern Pacific Ocean, (2) to study the causes of mortality of dolphins during fishing operations and promote the use of fishing techniques and equipment that minimize these mortalities, (3) to study the effects of different modes of fishing on the various fish and other animals of the pelagic ecosystem, and (4) to provide a secretariat for the International Dolphin Conservation Program.

An important part of the work of the IATTC is the prompt publication and wide distribution of its research results. The Commission publishes its results in its Bulletin, Special Report, and Data Report series, all of which are issued on an irregular basis, and its Stock Assessment Reports, which are published annually.

The Commission also publishes Annual Reports and Quarterly Reports, which include policy actions of the Commission, information on the fishery, and reviews of the year's or quarter's work carried out by the staff. The Annual Reports also contain financial statements and a roster of the IATTC staff.

Additional information on the IATTC's publications can be found in its web site.

La CIAT cumple sus obligaciones mediante dos programas, el Programa Atún-Picudo y el Programa Atún-Delfín. Las responsabilidades principales del primero son (1) estudiar la biología de los atunes y especies afines en el Océano Pacífico oriental a fin de determinar los efectos de la pesca y los factores naturales sobre su abundancia, (2) recomendar medidas apropiadas de conservación para permitir mantener los stocks de peces a niveles que brinden las capturas máximas sostenibles, (3) reunir información sobre el cumplimiento de las resoluciones de la Comisión. Las responsabilidades principales del segundo son (1) dar seguimiento a la abundancia de los delfines y la mortalidad de los mismos incidental a la pesca con red de cerco en el Océano Pacífico oriental, (2) estudiar las causas de la mortalidad de delfines durante las operaciones de pesca y fomentar el uso de técnicas y aparejo de pesca que reduzcan dicha mortalidad al mínimo, (3) estudiar los efectos de distintas mortalidades de pesca sobre los varios peces y otros animales del ecosistema pelágico, (4) proporcionar la Secretaría para el Programa Internacional para la Conservación de los Delfines.

La pronta publicación y amplia distribución de los resultados de investigación forman un aspecto importante de las labores de la Comisión, la cual publica los resultados en su serie de Boletines, Informes Especiales, e Informes de Datos, los cuales son emitidas en forma irregular, y sus Informes de Evaluación de Stocks, que son publicados anualmente.

La Comisión publica también Informes Anuales e Informes Trimestrales; éstos incluyen información sobre las labores de la Comisión, la pesquería, y las investigaciones realizadas en el año o trimestre correspondiente. Los Informes Anuales incluyen también un resumen financiero y una lista del personal de la CIAT.

Información adicional de las publicaciones de la CIAT puede ser encontrado en su sitio de internet.

Editor—Redactor
William H. Bayliff

Inter-American Tropical Tuna Commission
Comisión Interamericana del Atún Tropical
Scripps Institution of Oceanography
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.
www.iattc.org