

**INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISIÓN INTERAMERICANA DEL ATÚN TROPICAL**

Special Report 16

**A REVIEW OF IATTC RESEARCH ON THE EARLY LIFE
HISTORY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SCOMBRIDS
CONDUCTED AT THE ACHOTINES LABORATORY FROM
1985 TO 2005**

**RESUMEN DE LAS INVESTIGACIONES DE LA CIAT DEL
CICLO VITAL TEMPRANO Y BIOLOGÍA REPRODUCTORA DE
LOS ESCÓMBRIDOS REALIZADAS EN EL LABORATORIO DE
ACHOTINES ENTRE 1985 Y 2005**

by—por

**Daniel Margulies, Vernon P. Scholey, Jeanne B. Wexler, Robert J. Olson,
Jenny M. Suter, and Sharon L. Hunt**

La Jolla, California

2007



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, Guatemala in 2000, Peru in 2002, Spain in 2003, and the Republic of Korea in 2005. 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.

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, Guatemala en 2000, Perú en 2002, España en 2003, y la República de Corea en 2005. 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.

COMMISSIONERS—COMISIONADOS

COSTA RICA

Asdrubal Vásquez Nuñez

ECUADOR

Boris Kusijanovic Trujillo
Luis Torres Navarrete

EL SALVADOR

Manuel Calvo Benivides
Manuel Ferín Oliva
Sonia Salaverría
José Emilio Suadi Hasbun

ESPAÑA—SPAIN

Rafael Centenera Ulecia
Fernando Curcio Ruigómez
Samuel J. Juárez Casado

FRANCE—FRANCIA

Rachid Bouabane-Schmitt
Patrick Brenner
Delphine Leguerrier
Marie-Sophie Dufau-Richet

GUATEMALA

Gustavo Mendizábal Gálvez
Edilberto Ruiz Alvarez
Erick R. Villagrán Colón

JAPAN—JAPÓN

Katsuma Hanafusa
Masahiro Ishikawa
Ryotaro Suzuki

MÉXICO

Guillermo Compeán Jiménez
Ramón Corral Ávila
Michel Dreyfus León

NICARAGUA

Steadman Fagoth Müller
Manuel Pérez Moreno
Edward E. Weissman

PANAMÁ

María Patricia Díaz
Arnulfo Franco Rodríguez
Leika Martínez
George Novey

PERÚ

Gladys Cárdenas Quintana
Rosa Liliana Gómez
Alfonso Miranda Eyzaguirre
Jorge Vértiz Calderón

REPUBLIC OF KOREA— REPÚBLICA DE COREA

Jae-Hak Son
Kyu Jin Seok
Kwang Youl Park

USA—EE.UU.

Scott Burns
Robert Fletcher
Rodney McInnis
Patrick Rose

VANUATU

Christophe Emelee
Roy Mickey Joy
Dimitri Malviriani

VENEZUELA

Alvin Delgado
Luis Felipe de Moral raá
Nancy Tablante

Director

Robin L. Allen

Headquarters and Main Laboratory--Oficina y Laboratorio Principal

8604 La Jolla Shores Drive

La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.

www.iattc.org

COVER PHOTOGRAPH BY LIAM SCHOLEY
FOTOGRAFÍA EN LA PORTADA POR LIAM SCHOLEY

**INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISIÓN INTERAMERICANA DEL ATÚN TROPICAL**

Special Report 16

**A REVIEW OF IATTC RESEARCH ON THE EARLY LIFE
HISTORY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SCOMBRIDS
CONDUCTED AT THE ACHOTINES LABORATORY FROM
1985 TO 2005**

**RESUMEN DE LAS INVESTIGACIONES DE LA CIAT DEL
CICLO VITAL TEMPRANO Y BIOLOGÍA REPRODUCTORA DE
LOS ESCÓMBRIDOS REALIZADAS EN EL LABORATORIO DE
ACHOTINES ENTRE 1985 Y 2005**

by—por

**Daniel Margulies, Vernon P. Scholey, Jeanne B. Wexler, Robert J. Olson,
Jenny M. Suter, and Sharon L. Hunt**

La Jolla, California

2007

**A REVIEW OF IATTC RESEARCH ON THE EARLY LIFE HISTORY AND
REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SCOMBRIDS CONDUCTED AT THE ACHOTINES
LABORATORY FROM 1985 TO 2005**

by

**Daniel Margulies, Vernon P. Scholey, Jeanne B. Wexler, Robert J. Olson, Jenny M. Suter,
and Sharon L. Hunt**

1.	Introduction.....	3
2.	Research on the early life history of tunas	4
3.	The Achotines Laboratory and the IATTC early life history program	4
4.	Research on coastal tropical scombrids	5
4.1	Early facilities and experimental systems.....	5
4.2	Development of methods for the collection of larvae and juveniles at sea.....	5
4.3	Studies of larval and juvenile growth	6
4.4	Studies of nutrition and physiology of larvae and juveniles	6
4.5	Field surveys of distribution and abundance of larvae	7
4.6	Key research findings from early life history studies of coastal scombrids	8
4.7	Recommendations for future research on the early life history of coastal scombrids	9
5.	Research on yellowfin tuna	9
5.1	Background on the development of yellowfin research at the Achotines Laboratory	9
5.2	The joint IATTC-OFCF-Panama project agreement	10
5.3	The construction of new or upgraded facilities at the Achotines Laboratory for yellowfin research	10
5.4	Development and growth of adult yellowfin in captivity	11
5.5	Genetics of adult yellowfin in captivity	12
5.6	Spawning dynamics of yellowfin in captivity.....	12
5.7	Other behavioral or physiological studies of adult yellowfin in captivity	13
5.7.1	Sorting grid experiments	13
5.7.2	Experiments with archival tags.....	13
5.8	Development of vision in yellowfin tuna.....	14
5.9	Laboratory and <i>in situ</i> growth of larval and juvenile yellowfin.....	14
5.10	Laboratory studies of the effects of physical factors and larval density on growth and survival of yellowfin larvae	15
5.11	Feeding studies of yellowfin larvae and juveniles in the laboratory.....	17
5.12	Key research findings from studies of yellowfin tuna	17
5.13	Recommendations for future research	19
	Figures.....	23
	Literature Cited	61

1. INTRODUCTION

For nearly a century, fisheries scientists have studied marine fish stocks in an effort to understand how the abundances of fish populations are determined. During the early lives of marine fishes, survival is variable, and the numbers of individuals surviving to transitional stages or recruitment are difficult to predict.

The egg, larval, and juvenile stages of marine fishes are characterized by high rates of mortality and growth. Most marine fishes, particularly pelagic species, are highly fecund, produce small eggs and larvae, and feed and grow in complex aquatic ecosystems. The identification of environmental or biological factors that are most important in controlling survival during the early life stages of marine fishes is a potentially powerful tool in stock assessment.

Because vital rates (mortality and growth) during the early life stages of marine fishes are high and variable, small changes in those rates can have profound effects on the properties of survivors and recruitment potential (Houde 1989). Understanding and predicting the factors that most strongly influence pre-recruit survival are key goals of fisheries research programs.

2. RESEARCH ON THE EARLY LIFE HISTORY OF TUNAS

Although decades of research have provided considerable information on the populations of adult tunas, relatively little is known about the early life history stages and the factors that affect pre-recruit survival. Tunas are among the most commercially-valuable marine fish stocks in the world (FAO 2004), and recruitment variability is one of the most important factors affecting their population fluctuations (IATTC-CIAT 2004).

Tuna stocks are characterized by order-of-magnitude recruitment fluctuations, but the underlying mechanisms controlling the variability in recruitment remain poorly understood. For example, yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) are recruited to the surface fishery in the eastern Pacific Ocean (EPO) at approximately 30 cm in length and 6 months of age (Maunder and Harley 2005). Yellowfin recruitment in the EPO has fluctuated by a factor of three over the past 30 years (Maunder and Harley 2005). Yellowfin are highly fecund (batch fecundities > 1,000,000 oocytes per female) and spawn almost daily during their reproductively-active periods (Schaefer 2001). Yellowfin early life stages are characterized by high mortality rates, high metabolic rates, and exponential growth (Margulies *et al* 2001, Wexler *et al.* 2001). This pattern of reproduction and early life history has strong potential for regulation of recruitment during larval or early-juvenile stages, when initial numbers in a cohort are large and vital rates (mortality and growth) are high (Houde 1987, Margulies *et al.* 2001). Most tunas exhibit similar patterns of high reproductive potential and pre-recruit life stages that are characterized by fast growth and high mortality (Davis *et al.* 1991, Tanaka *et al.* 1996, Margulies *et al.* 2001).

Prior to the 1980s, few studies had been undertaken to examine the mechanisms that control pre-recruit survival of tunas or to estimate their vital rates during their early life stages. These considerations motivated the Inter-American Tropical Tuna Commission (IATTC) to establish a research facility at Achotines Bay in the Republic of Panama for the purpose of studying the early life histories of tropical tunas and tuna-like fishes (scombrids).

3. THE ACHOTINES LABORATORY AND THE IATTC EARLY LIFE HISTORY PROGRAM

The Achotines Laboratory is located on the southern coast of the Azuero Peninsula in the Los Santos province of the Republic of Panama (Figure 1). This region is in the northwestern portion of the Panama Bight. The continental shelf is quite narrow at this location; the 200-m depth contour occurs only 6 to 10 km (3 to 5 nm) from shore. This provides the scientists working at the Achotines Laboratory with ready access to oceanic waters where spawning of tunas occurs during every month of the year. The annual range of sea-surface temperature in these waters is approximately 21° to 29° C.

The early life history research program involves laboratory and field studies of tropical scombrids aimed at gaining insight into the recruitment process and the factors that affect it. Previous research on recruitment of non-scombrid fishes suggests that abiotic factors, such as temperature, light, current patterns, and wind conditions, and biological factors, such as feeding, growth, and predation, can affect recruitment (Houde 1997). As the survival of pre-recruit fishes is probably controlled by a combination of these factors, the IATTC research program addresses the interaction between the biological system and the physical environment (Lauth and Olson 1996, Owen 1997).

Research on tropical scombrids at the Achotines Laboratory has involved two distinct phases. The first phase of research was directed predominantly at coastal, tropical scombrids, mainly black skipjack (*Euthynnus lineatus*), bullet and/or frigate tunas (*Auxis* spp.), sierra (*Scomberomorus sierra*), and striped bonito (*Sarda orientalis*), during the period from 1984 to 1995. From 1996 to present, the focus of research shifted to the reproductive biology and early life history of yellowfin tuna, utilizing eggs

spawned by captive yellowfin broodstock.

In this report, we review the research conducted at the Achotines Laboratory since its inauguration in 1984. We also summarize the key research findings from the studies and develop recommendations for future research on the early life history and biology of tropical tunas.

4. RESEARCH ON COASTAL TROPICAL SCOMBRIDS

4.1. Early facilities and experimental systems

The site for the Achotines Laboratory was selected in a fairly remote area on the southern coast of the Azuero Peninsula in the Republic of Panama (Figure 1). This area is used predominantly for agriculture. The remote location has presented special challenges for management and planning of the research program conducted at the Laboratory (Scholey 1997).

After considerable scouting effort by Drs. James Joseph, George Schumann, and Robert Olson, the IATTC purchased the Achotines Laboratory site in 1982. Under the supervision of Dr. Schumann and Mr. James Ianelli, and with the support of Mr. Bruce Chatwin and local staff, five small buildings were erected in 1984 and 1985: a laboratory building, a block of three apartments, a kitchen and eating area for the staff, a generator shed, and a workshop/warehouse. During this same period five earthen ponds were built for culturing small fishes for food for captive juvenile tunas, and a small intake line and pump were installed to supply seawater, during high tides, to the ponds and laboratory. Through 1985 there were limited facilities for maintaining nightlight-caught scombrids in captivity, using *Artemia* and wild-caught zooplankton as food sources. Office and analytical work was carried out in the residential area.

In 1986, we installed a larger seawater pumping system, providing a maximum of 15 m³ h⁻¹ of filtered seawater through all tidal cycles, and the laboratory structure was rebuilt to include culture areas, office space, and analytical laboratory space. In 1987 we added a second apartment block, fuel storage tanks, a seawater reservoir tank, and a water recirculation system for the laboratory.

In 1988, we installed 12 identical fiberglass tanks, of 330 L volume, allowing experiments on factors affecting growth and survival of larval and juvenile scombrids. The capability for controlling the temperature of the water in these tanks was added in 1989. We installed a larger above-ground (6.4 m diameter, 38 m³ in volume) culture tank in 1990. In 1991 five black skipjack caught at sea in larval/early juvenile stage reached sexual maturity after about one year in captivity in this tank. We believe this was the first time a tuna was cultured from the larval/early juvenile stage to a mature adult in captivity.

In 1992, the same above-ground tank was given improved water filtration, ultraviolet sterilization systems, and drains designed to collect freshly-spawned eggs, and we used it to hold adult black skipjack captured at sea and transferred to the laboratory. These broodstock black skipjack began spawning in 1993, and spawned daily, except for a 2.5-month hiatus during 1994 (IATTC-CIAT 1995). During 1994 we collected fertilized black skipjack eggs, and the resulting larvae survived up to 8 days. We carried out additional experiments with black skipjack eggs and larvae to measure the development rates, age, growth, and food selectivity of the larvae.

4.2. Development of methods for the collection of larvae and juveniles at sea

When we first began our studies of coastal scombrids in the Panama Bight, early-juvenile tunas had rarely been collected at sea for scientific studies. We developed methods for the collection of large numbers of live early-juvenile scombrids at sea (Figure 1). The fish were collected by dipnet after attraction to an underwater light (24 V DC, 300 W) and transported alive to laboratory tanks. They were fed in the laboratory with wild zooplankton size-graded between 333 and 1000 µm in body width, predominantly cladocerans and copepodite and adult stages of copepods. The successful collection and maintenance of scombrids in the laboratory supported numerous experiments examining the growth, nutrition, and development of larvae and early juveniles.

4.3. Studies of larval and juvenile growth

Since small changes in growth rates and mortality can have a significant impact on recruitment variability (Houde 1989), we directed a large portion of our research toward characterizing growth during the early life stages of several tuna species. We examined a number of physical and biological factors that could potentially affect survival and growth, using both laboratory and field applications.

Previous to our studies, daily increments in the otoliths had not been validated for most scombrid larvae, and *in situ* growth rates had not been estimated for the larvae and early juveniles of scombrids occurring in the Pacific Ocean. From 1986 to 1993, we collected scombrid larvae in offshore waters (Figure 1) to study *in situ* and laboratory growth. We validated daily increments in the otoliths of larval and early-juvenile black skipjack (Wexler 1993) and bullet/frigate tunas (IATTC-CIAT 1993: 46-48) to estimate ages and *in situ* growth rates from length-at-age data.

Our earlier studies characterized growth and examined the temporal variation in *in situ* growth rates of black skipjack (Wexler 1993) up to 23 days of age. There are two main seasons in the northwestern Panama Bight, consisting of a rainy, reduced upwelling season (the wet season, generally May through December), and a dry, upwelling season (the dry season, generally January through April). Although not significantly different, the growth rate of black skipjack larvae during the wet season was greater (0.90 mm d^{-1}) and more variable than that during the dry season (0.70 mm d^{-1}). The dry season is characterized by higher productivity and lower sea surface temperatures. Despite lower zooplankton levels during the wet season, 8 to 14-day-old larvae appear to be proficient feeders even when the distribution of prey organisms is patchy (Owen 1989). Higher water temperatures during this period may also explain the greater, but variable, growth rates (Scholey 1993). An overall growth rate of 0.70 mm d^{-1} was estimated for larvae and early-stage juveniles 6-23 days old that were collected during both seasons between 1987 and 1989 (Wexler 1993). This growth rate is slightly less than might be expected for this species, given their growth potential in captivity of approximately 1.0 to 4.8 mm d^{-1} (Clemens 1956, Olson and Scholey 1990). We believe that the lower *in situ* growth of black skipjack compared with that in captivity is associated with the patchiness of prey, lesser availability of food, and the high activity and energy levels needed to avoid predation and search for prey organisms in the sea. Our laboratory growth experiments with black skipjack larvae (reared from hatched eggs) and juveniles (collected at sea) have indicated that growth of first-feeding larvae is slow ($< 0.2 \text{ mm day}^{-1}$) compared to late-larval and early-juvenile growth (1.0 - 2.5 mm day^{-1}) (Scholey 1993, IATTC-CIAT 1995: 37-38). The results from these experiments provided some indication that growth of black skipjack larvae may be more temperature limited during the dry season (January-April) and may be more food limited during the wet season (May-December).

During 1990, we also examined the laboratory growth of late-larval and early-juvenile bullet/frigate tunas at low to moderate levels of zooplankton prey. Validation studies of daily growth increments were also conducted (IATTC-CIAT 1993: 46-48), and were able to validate daily increments in the otoliths over the size range of 14 to 51 mm standard length (SL). Over an 8-day period in the laboratory, growth rates were very high at 3.41 mm d^{-1} in length and approximately 22 mg d^{-1} in dry weight.

4.4. Studies of nutrition and physiology of larvae and juveniles

From 1988 to 1995, we conducted several studies to examine the nutrition and physiology of coastal scombrids in the Panama Bight. At that time, there was almost no published information on the nutrition or physiology of early life stages of tunas. Our studies centered on investigations of starvation potential in tropical tuna larvae and early juveniles. We also described the development of vision in larval and early-juvenile scombrids. Additional research was conducted to describe the development of endothermy (the ability to elevate muscle temperatures significantly above ambient water temperature) in young tunas.

In 1988, estimates of starvation potential in tropical fish larvae were unavailable. We examined the nutritional condition and *in situ* starvation rates of larval and early-juvenile black skipjack, bullet and/or frigate tunas, and sierra during the wet season of 1988 in an effort to obtain estimates of the incidence of

starvation in tropical tuna larvae. Larvae and early-juveniles sampled in the wild were examined histologically to determine nutritional condition and *in situ* rates of malnourishment (Margulies 1993). Histological criteria for nutritional condition were developed via laboratory calibration experiments. The nutritional point-of-no-return for preflexion (no notochord flexion) larvae was estimated at 1 to 2 days maximum, while postflexion larvae and early juvenile black skipjack exhibited a nutritional point-of-no-return of 2 to 3 days. The incidence of starvation in wild preflexion larvae was high, ranging from 62 to 63% day⁻¹ for black skipjack and bullet/frigate tunas, while the percentage of larvae actually dying of starvation was estimated at 41 to 43% day⁻¹ (Figure 2). In contrast, less than 13% of late-larval and early-juvenile black skipjack exhibited even mild nutritional stress. Margulies (1993) concluded that preflexion scombrid larvae can suffer significant daily losses due to starvation, while postflexion larvae and early juveniles seem to experience a rapid improvement in feeding abilities and are far less vulnerable to starvation. These results were the first published estimates of starvation rates in tropical marine larvae and early juveniles.

Studies of the morphological basis for feeding patterns and sensory abilities in young fishes provide an improved understanding of behavior and patterns of distribution during pre-recruit life stages. When we initiated studies of larval and early-juvenile scombrids, virtually nothing was known about the development of vision or the morphological basis for feeding during the early life history of scombrids. Using samples originally preserved for the *in situ* starvation study, we examined larval and early-juvenile black skipjack, bullet/frigate tuna, and sierra histologically to describe the development of the visual system. The results, published by Margulies (1997), indicated that the development of the visual system in larval scombrids is advanced and is likely involved in rapid improvements in foraging abilities and piscivory. Larvae of black skipjack, bullet/frigate tuna, and sierra exhibit slightly more advanced visual development than other marine fish larvae. Visual acuity and rod recruitment in the retina are advanced in larval scombrids, and, combined with early development of the visual centers in the brain, probably contribute to the rapid development of improved foraging abilities and piscivory during the late-larval and early-juvenile stages.

From 1988 to 1995, several studies were conducted at the Achotines Laboratory by Dr. Kathryn Dickson and graduate students of the California State University at Fullerton to examine the development of endothermy in black skipjack. These studies were designed to estimate the minimum size at which black skipjack can elevate muscle temperature. Previous studies had confirmed endothermy in tunas, but had been conducted only with fish greater than 1 kg in weight. Dr. Dickson estimated that black skipjack as small as 207 mm fork length (FL) can significantly elevate muscle temperature (Dickson 1994). She also examined the ontogeny of endothermy both above and below the estimated size of endothermic capacity (207 mm FL) (Dickson *et al.* 2000). She found evidence of heat exchanger systems (retia) in individuals as small as 96 mm FL. These results, which were the first published estimates of endothermic abilities of small tunas, had important applications for understanding the thermoregulatory abilities and distribution of young tunas in the ocean.

4.5. Field surveys of distribution and abundance of larvae

Prior to the 1980s, little was known about the distribution and abundance of scombrid larvae in relation to seasonal or annual variability in the physical environment. In 1989, we began a series of field surveys in the northwestern Panama Bight designed to investigate the spatial and temporal distribution patterns of scombrid larvae in relation to the local oceanographic and secondary production conditions of the region. Our approach was to sample repetitively over a small spatial scale for several years. Sampling was conducted from a 25-ft (7.6-m) Boston Whaler outfitted with a mast, boom, and hydraulic winch. Ichthyoplankton tows and CTDO (conductivity, temperature, depth, and oxygen) casts were made at each sampling station.

During 1989-1990, bongo (335- μ m mesh) nets were used to sample fish larvae concurrent with CTDO casts. Sampling was conducted at 14 stations along 3 transects extending southward from the Azuero

Peninsula (Figure 1) during the two dominant seasons of the region, the dry season (January-April) and the wet season (May-December). Results of the study were summarized by Lauth and Olson (1996). They reported that larval abundance of black skipjack, bullet/frigate tunas, sierra, and striped bonito (*Sarda orientalis*) was greatest during the dry season. Upwelling was also associated with increased secondary production in the study area (Figure 3). Black skipjack and bullet/frigate tunas appear to spawn year-round in the study area, and the Gulf of Panama appears to be a major spawning area for these species. *Thunnus* spp. (yellowfin and/or bigeye) larvae were rare in collections and appear to spawn in waters further offshore (south and/or west of the study area). The wet season was characterized by episodic, lower-amplitude peaks in secondary production and scombrid larval abundance.

From 1990 to 1993, we changed our sampling protocols to focus on the vertical and diel patterns of distribution of larval scombrids at a single sampling station (MSB, the 200-m isobath seaward of Punta Mala)(Figure 1). Ichthyoplankton sampling was conducted, using an opening-closing Tucker trawl to collect scombrid larvae at discrete depths in the upper 100 m of the water column. CTDO sampling was conducted concurrently. During the first year of Tucker sampling, ichthyoplankton samples were fixed in formalin for gut content and length-distribution analyses. In 1992 and 1993, net samples were split at sea, with 50% of each sample fixed for aging, growth, and diet analyses, and 50% fixed for histological analysis of nutritional condition of larvae. Microzooplankton prey were sampled simultaneously with a nested, fine-mesh (70- μ m) net to examine larval fish-prey dynamics. Analyses of the Tucker samples have been deferred to date. Once completed, the analysis of the Tucker survey data will provide information on the diel, vertical distribution, *in situ* rates of growth and starvation, and diet patterns of scombrid larvae.

4.6. Key research findings from early life history studies of coastal scombrids

Studies of the early life history and reproductive biology of coastal, tropical scombrids during the first decade of operation of the Achotines Laboratory produced new and important findings on the biology of tropical scombrids. The most important findings were as follows:

1. We described for the first time the growth dynamics of larval and juvenile tropical scombrids in the Pacific Ocean, and learned that late-larval black skipjack are proficient feeders and capable of fast growth even during the wet season, when secondary production is lower. We learned that juvenile black skipjack, bullet/frigate tunas, and sierra are capable of extremely fast growth in the laboratory (1-5 mm day⁻¹) and possess a large scope for growth.
2. We developed methods for the collection and husbandry of late-larval and early-juvenile scombrids. These proved invaluable in conducting laboratory experiments to examine the growth dynamics, nutrition, and physiology of tropical scombrids.
3. During 1991, we completed the life cycle for black skipjack in captivity by rearing field-caught larvae to reproductive maturity over a period of 1 year. This was the first time that a species of tuna was reared from the larval stage to reproductive size. In 1993 we developed, also for the first time, a captive spawning population of black skipjack.
4. We provided the first estimates for tropical waters of the incidence of starvation in larval and juvenile scombrids. First-feeding larvae of black skipjack, bullet/frigate tunas, and sierra exhibited a high potential for starvation during the wet season in the Panama Bight. We concluded that starvation mortality alone for first-feeding tropical tuna larvae approached 45% day⁻¹. Early juveniles, however, exhibited a very low incidence of malnourishment.
5. We gained important insights into the temporal and spatial distribution of larval scombrids in the Panama Bight. A larval survey combined with oceanographic sampling during 1989-1990 revealed elevated abundances of black skipjack, bullet/frigate tuna, and sierra larvae during the dry season (January-April). The increased abundances of larvae coincided with periods of maximum secondary production. Black skipjack and bullet/frigate tunas appear to spawn year-round in the study area, and

the Gulf of Panama appears to be a major spawning area for these species. Yellowfin and/or bigeye (*Thunnus* spp.) larvae were rare in collections, and appear to spawn in waters further offshore (south and/or west of the study area). Descriptions of the diel, vertical distribution, growth, starvation rates, and diets of larvae, based on Tucker trawl surveys during 1990-1993, await further analyses of archived samples.

6. We validated daily increments in the otoliths of larval and early-juvenile black skipjack and bullet/frigate tuna to determine ages and estimate *in situ* growth rates based on length-at-age data. Daily increments had not been validated in the otoliths of most scombrid larvae previous to our studies.
7. We described, for the first time, the development of the visual system of larval and early-juvenile scombrids. The visual system is advanced, and undoubtedly contributes to rapid improvements in foraging abilities and the early onset of piscivory. We also supported the first studies to describe the minimum size for endothermy in tunas (Dickson 1994).
8. Early studies of coastal species from 1984 to 1995 contributed new information on the feeding, growth, and survival during early life stages of tropical tunas. We also built on these studies in our development of a research program on the reproductive biology and early life history of yellowfin tuna in subsequent years.

4.7. Recommendations for future research on the early life history of coastal scombrids

In the near-term, future research at the Achotines Laboratory would continue to emphasize studies of the adult biology and early life history of yellowfin tuna. However, research on coastal tropical scombrids should be continued to complement and expand our knowledge of the biology of tropical scombrids. We recommend the following topics of study for research on coastal scombrids:

1. New broodstock of coastal species could be established at the Achotines Laboratory. Species most suitable for broodstock development include black skipjack, striped bonito, sierra, and wahoo. Sub-adult fish of these species are common in nearshore waters of the Azuero Peninsula, and could be caught and reared to reproductive size in the existing laboratory tanks. Little information has been published on the reproductive biology and early life history of striped bonito, sierra, or wahoo, and the establishment of broodstock of these species would provide an opportunity to study the pre-recruit life stages of these species.
2. Analysis of samples from our 1990-1993 Tucker trawl surveys in the Panama Bight should be completed. The analysis of these samples has been deferred in recent years, as we have concentrated our research efforts on studies of yellowfin. The first studies of the archived samples should be descriptions of the diel vertical distribution and the diets of larval scombrids collected in the surveys. These studies should be followed with analyses of the *in situ* growth and nutritional condition of larvae.

5. RESEARCH ON YELLOWFIN TUNA

5.1. Background on the development of yellowfin research at the Achotines Laboratory

In 1990, discussions were initiated between the IATTC and Japanese agencies to conduct collaborative studies of the spawning and early life history of yellowfin tuna, in order to combine the research expertise of the various organizations. Yellowfin broodstock had been developed in anchored sea pens by scientists of the Japan Sea Farming Association (JASFA) at the Yaeyama Station on Ishigaki Island, Japan, beginning in 1986 (Masuma *et al.* 1993). During this same period, the early life history research group of the IATTC had developed methods for rearing young tunas at the Achotines Laboratory. In 1992, joint experiments, supported by the Overseas Fishery Cooperation Foundation (OFCF) of Japan and the Federation of Japan Tuna Fisheries Cooperative Associations, were conducted at the Yaeyama Station to examine aspects of the reproductive biology and early life history of yellowfin tuna. The experiments

included studies of the feeding, age validation, and growth of yellowfin larvae (Margulies *et al.* 2001, Wexler *et al.* 2001).

Margulies *et al.* (2001) and Wexler *et al.* (2001) found that yellowfin larvae are selective feeders, exhibiting strong preference for relatively scarce, large prey items, while continuing to include more abundant, small prey to fill out their diet. Their analysis also indicated a strong potential for the influence of microscale turbulence on the feeding success of yellowfin larvae. The results also yielded new information on the age validation of yellowfin larvae. They indicated that the first growth increment in otoliths is deposited within 12 hours of hatching, and subsequent growth increments are formed daily following the first 24 hours after hatching for larvae up to 16 days of age.

In 1993, the two research groups conducted additional joint studies at the Yaeyama Station. These experiments examined the growth and food selection of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) larvae. Results indicated that bluefin larvae are also selective feeders, but they are less sensitive to prey levels, are slightly larger, and have relatively larger mouth sizes at first feeding compared to yellowfin larvae (IATTC-CIAT 1995: 41-43).

Based on the success of the joint studies of yellowfin conducted in Japan in 1992 and 1993, and positive results of larval and adult black skipjack research at the Achotines Laboratory, in December 1993 the IATTC, the OFCF, and the government of the Republic of Panama agreed to undertake a larger joint study, funded mostly by the OFCF, of yellowfin tuna and of snappers and corvina at the Achotines Laboratory. The studies of snappers and corvina are not discussed in this report. In the following subsections of this report, the main areas of investigation of yellowfin at the Achotines Laboratory from 1996 to 2005 are summarized.

5.2. The joint IATTC-OCFC-Panama project agreement

With regard to yellowfin tuna, the objectives of the project were to: (1) culture adult yellowfin to supply larvae and juveniles for research on its early life history; and (2) production of food organisms for the larval and juvenile yellowfin. In general, the yellowfin project was designed to gain new insights into the reproductive biology and early life history of the species by maintaining a spawning population of adults and studying the egg, larval, and juvenile stages in the laboratory. The joint project extended through March 2001. From March 1994 through March 2000, Mr. Akio Nakazawa served as the OFCF project counterpart in residence at the Achotines Laboratory, working jointly with the IATTC early life history research group. He was succeeded by Mr. Yukiyasu Niwa from March 2000 through March 2001. Since March 2001, the yellowfin research program has been continued by the IATTC research group.

5.3. The construction of new or upgraded facilities at the Achotines Laboratory for yellowfin research

Expansion of and improvements to the infrastructure of the Achotines Laboratory were necessary to carry out the objectives of the joint yellowfin project. We initiated a major expansion of the Laboratory in 1994 with funding provided primarily by the OFCF.

To rear broodstock yellowfin, we carried out the construction of new broodstock and rearing tanks and a seawater system from late 1994 through early 1996, with additional minor construction continuing through 1999 (Wexler *et al.* 2003). The broodstock and rearing tanks were operational by early 1996.

We located the seawater intakes just outside the entrance to Achotines Bay at a depth of 16 m, drawing water through dual PVC intake lines to a pump house on the beach (Figure 4), which contained two fiberglass pumps that lifted $45 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ each to a slow sand filter, located 16 m above the pump house. We used one or both pumps, depending on seawater demands. From the filter, which retained particles larger than about $50 \text{ }\mu\text{m}$, the water flowed by gravity into a 60-m^3 header tank, through additional cartridge filters and ultra-violet (UV) sterilizers, and into the broodstock tanks.

The three broodstock and three rearing tanks (Table 1) were housed in a 1300-m^2 roofed, open-walled

building. We designed the main broodstock tank (Tank 1) to be large enough to minimize the stress of captivity and enhance the chances of spawning. We strung tuna purse-seine netting around the perimeter of the tank to prevent fish from jumping out of the tank and placed translucent panels in the roof above Tanks 1 and 2 to allow exposure to the natural photoperiod.

We constructed an aeration tower to aerate and degas the makeup and recirculated water entering Tank 1, using two fiberglass pumps to pump water from the surface of the tank sump to the top of the tower. The water cascaded through the packed column and returned by gravity to the tank via four outflow pipes. About 10% of the water pumped to the aeration tower was diverted through a foam fractionator to remove small particles and dissolved organic material, and then returned to the aeration tower.

We provided biofiltration for Tank 1 by drawing water from the bottom of the sump with a fiberglass pump that delivered to a slow sand biofilter (Figure 4). The filtered water returned by gravity to the sump and solids were retained by the biofilter and flushed away daily by backwashing. We added makeup water to Tank 1 daily to replace 5-20% of the water.

The design of Tanks 2 and 6 was similar to that of Tank 1, but on a reduced scale (Table 1). The principal difference was that these tanks did not have an aeration tower or foam fractionator, and air stones provided aeration. We used Tank 2 to maintain smaller tuna as reserve broodstock. Tank 6 was used for various studies (see Section 5.7). Tanks 3, 4, and 5 were flow-through with no recirculation systems, and air stones provided aeration. These tanks were used for our short-term preliminary experiments and initial rearing of yellowfin, and for rearing of non-tuna species. We maintained backup pumps and backup aeration systems for all of the tanks.

During this period we upgraded the "wet" laboratory facilities with additional experimental aquaria fitted with small heaters and chillers to control water temperatures, lighting to regulate photoperiod, and aeration equipment. We also constructed a building dedicated to the storage and preparation of broodstock food and the culturing of food organisms for the larvae resulting from spawning by the broodstock fishes. A new office and "dry" laboratory building with an expanded array of analytical equipment and microscopes was also built. We purchased two new panga-style boats for collection and transfer of fish; the boats carry transport tanks and are 7.3 m (24 ft) and 8.2 m (27 ft) in length, respectively. We added a concrete pier and boat ramp in 1999 to facilitate boat operations.

5.4. Development and growth of adult yellowfin in captivity

Once construction of the seawater system and in-ground tanks were completed, we concentrated our efforts on stocking the main (Tank 1) and reserve (Tank 2) broodstock tanks with yellowfin captured near the Frailes Islands (Figure 1) between April and June of 1996. On average, 50% of the yellowfin caught survived capture and handling, and approximately 30% became broodstock in Tank 1 or Tank 2. Each fish was tagged with a microchip implant tag, and then weighed, measured, and injected with oxytetracycline. We monitored and described the growth, survival, and feeding and energy requirements of the broodstock from 1996 through 1999 (Wexler *et al* 2003). These results provided the first long-term broodstock information for tropical tunas in a land-based system. A diet of 50% squid and 50% fish, such as thread herring (*Opisthonema* spp.) or anchoveta (*Cetengraulis mysticetus*), seems to provide adequate nutrition for broodstock yellowfin and fuels almost continuous spawning. Analysis of the proximate composition (protein, moisture, fat, and ash) of the food organisms indicates that thread herring provides the highest caloric value (116% higher than squid), while anchoveta provides 64% more calories than squid. The inclusion of squid as 50% of the daily ration provides a lower-fat diet that aids in reducing fatty deposits in the broodstock fish. Since 1999, we have periodically replenished the broodstock with younger, smaller fish to ensure continuous spawning. Growth of the broodstock has been estimated during two overlapping time periods, 1996-2001 and 1999-2006 (the time periods overlap due to occurrence of individual fish in the broodstock during both time periods). Our estimates of growth in length of captive fish (Figure 5) decreased with increasing lengths of the fish, ranging from 8 to 48 cm year⁻¹ for the 1996-2001 period and from 4 to 65 cm year⁻¹ for the 1999-2006 period. We estimated

growth in weight (Figure 6) at 9 to 26 kg year⁻¹ for the 1996-2001 period and 1 to 25 kg year⁻¹ for the 1999-2006 period, and these estimates also decreased with increasing weights of the fish. Based on the survival and growth of our initial broodstock, we continue to maintain our current and future long-term broodstocks in Tank 1 with initial stocking densities of no more than 0.50 to 0.75 kg m⁻³ after the first year in captivity.

5.5. Genetics of adult yellowfin in captivity

We conducted genetic monitoring of the spawning yellowfin by comparing mitochondrial DNA (mtDNA) variation of spawning females with those of their eggs and larvae. The genetic studies were conducted with Mr. Yukiyasu Niwa, of the OFCF, and directed by Dr. Seinen Chow, of the National Research Institute of Far Seas Fisheries (NRIFSF) of Japan. We were able to identify individual spawning females and to monitor their spawning behavior (Niwa *et al.* 2003). We also confirmed Mendelian inheritance of the ribosomal protein gene intron variations (Chow *et al.* 2001) and contributed to a study confirming Mendelian inheritance of microsatellites (Takagi *et al.* 2003). Individual females are capable of spawning daily for extended periods as long as they remain in the appropriate range of water temperatures (>24°C) and have sufficient food. The genetic variation of the mtDNA *D-loop* region of yellowfin appears to be so high that it is probably useful not only for identification of individual fish, but also for investigations of population structure in natural waters.

5.6. Spawning dynamics of yellowfin in captivity

Courtship behavior or spawning aggregations have not been observed in tunas in nature. Little is known about the spawning behavior of tunas or the influence of physical factors on spawning or egg and larval development. Estimates have been made of spawning seasons, spawning intervals, fecundities, and energetic costs of spawning for yellowfin, based on histological analyses of gonads of fish sampled at sea (Schaefer 2001). Almost nothing is known about how tunas aggregate for spawning, their courtship and spawning behavior, the duration of spawning events, or the effects of physical variables on spawning dynamics or early stage development. The development of the spawning population of yellowfin tuna at the Achotines Laboratory allowed us to study the daily spawning dynamics of yellowfin over multiple years. Since 1996, we have observed and described the courtship and spawning behaviors of the captive yellowfin, their spawning periodicity, the influence of physical and biological factors on spawning and hatching, and the egg and early larval development. We summarized these aspects of yellowfin spawning dynamics for the 1996-2000 period (Margulies *et al.* in press).

The spawning by the yellowfin broodstock at the Achotines Laboratory, beginning in 1996, represents the first occurrence worldwide of sustained spawning by yellowfin in landbased facilities. During the first four years, yellowfin spawning was near-daily over extended periods, and occurred at a water temperature range of 23.3° to 29.7°C (Figure 7). Water temperature appeared to be the main exogenous factor controlling the occurrence and timing of spawning. Spawning events were preceded by courtship behaviors for 1 to 4 hours prior to spawning. Spawning groups consisted of 1 female and 1 to 5 males, and typically 2 to 8 groups spawned simultaneously in the tank. During the 1996-2000 period, the time of day of spawning was strongly and directly correlated, and egg stage duration inversely correlated, with mean daily water temperature, resulting in a narrow range for the time of day at hatching, 95% of which occurred between 1500 and 1900 hours (Figure 8). During subsequent years (2001-2005), the broodstock exhibited the same pattern for the diel timing of spawning and hatching, except for the period of April-June 2002, when repeated, rapid changes in water temperature during April resulted in atypical times of spawning (0100 to 1030 hrs). Barring such anomalous, rapid changes in water temperature, we believe that this pattern for the diel timing of spawning and hatching in response to water temperature is important, and has adaptive significance for the early life history of yellowfin. In nature, the maintenance of a conservative time for egg hatching (late afternoon or early evening) would ensure that newly-hatched larvae spend the first 12 to 15 hours post-hatch in dimming light or darkness, thus minimizing mortality from predation and damage from ultraviolet light. The spawning periodicity of the broodstock and their

ability to adjust the time of day of spawning in response to water temperature suggests that yellowfin have the ability to rapidly integrate sensory information on water temperature and, often within hours, adjust hormonal control of final maturation processes and spawning. We estimated the age at first spawning to be 1.3 to 2.8 years, averaging slightly less than 2.0 years. Over short time periods (<1 month), spawning females increased their egg production from 30 to 234% in response to short-term increases in daily ration of 9 to 33%. Egg production peaked from 4 to 21 days (average of 12 days) after increasing rations. Hatch rates averaged 83%. Water temperature was significantly, inversely related to egg size, egg stage duration, larval size at hatch, and yolk-sac larval duration. We estimated that the growth potential from early-stage larva to size at recruitment (30 cm, 6 months of age) is very high, approaching 10^6 to 10^7 times.

5.7. Other behavioral or physiological studies of adult yellowfin in captivity

We have also used captive adult yellowfin in behavioral or physiological experiments. In addition to the genetic studies and spawning behavior observations, we have carried out experiments related to escapement of small fish from purse seines and experiments to evaluate the performance of archival tags.

5.7.1. Sorting grid experiments

Small, unmarketable tunas comprise an important component of the bycatches in the purse-seine fishery for tunas in the EPO. At the 58th meeting of the IATTC in June 1997, a working group was established to examine the issue of purse-seine bycatch in the EPO. One of the objectives of the working group was “to develop gear technology that is effective in reducing bycatch to the maximum extent possible.” Bycatch-reduction devices have not been developed for tuna purse-seine vessels. However, a rigid sorting grid for reducing the bycatches of undersized mackerel and saithe by purse-seine vessels had been designed and tested by the staff of the Institute of Marine Research in Bergen, Norway.

In September 1998, we tested the feasibility of applying this technique to the purse-seine fishery for tunas with captive yellowfin at Achotines Laboratory. An experiment was designed to determine if the fish would swim through a sorting grid and, if so, to estimate the mortality rates of the fish that passed through the grid. This modest experiment provided evidence that yellowfin will swim through a sorting grid, and that their subsequent mortality is not excessive.

We carried out a second set of experiments in 2005. An early field trial on the F/V *Ile Aux Moines* suggested that the behavioral response of tunas to any sorting grid would likely determine the efficacy of the device. Dr. Peter Nelson (IATTC postdoctoral fellow) worked with the early life history research group and laboratory staff in a study of the behavioral responses of yellowfin tuna to sorting grids.

We found that both orientation and color (white vs. black) had significant effects on the relative frequency with which tunas chose one device over another (Nelson *et al.* in review). We also tested the importance of grid position in our experimental set-up; this factor turned out to be the most important of all. The latter result suggests that the physical crowding of tunas in a purse seine may be of fundamental importance in developing a strategy for using sorting grids in the purse-seine fishery. Transparent PVC panels with oblong holes proved to be far superior to an array of rigid rings sewn directly into purse seine webbing as a sorting grid design. In a simple test of tuna behavioral response to bubble curtains, we found that the fish were reluctant to pass through such a barrier. This experiment and the sorting-grid trial suggest at a minimum how we might improve our chances of designing a successful sorting grid device, and that bubble curtains are worthy of trials in the field.

5.7.2. Experiments with archival tags

The long-term studies of adult yellowfin at the Achotines Laboratory include a series of archival tag trials carried out by Messrs. Kurt Schaefer and Dan Fuller, the early life history research group, and the Achotines Laboratory staff. The trials were conducted to investigate whether feeding and spawning events could be detected by analyzing temperature data recorded by archival tags implanted in the

peritoneal cavity of yellowfin. In addition, the overall performance of the archival tags was evaluated. From 2001 to 2005, we have implanted archival tags into the body cavities of several dozen yellowfin, ranging from 4 to 10 kg, and placed them into Tanks 1 or 2. We thawed frozen food to ambient tank water temperatures prior to feeding, and were able to record a slight dip in peritoneal temperature at feeding in several fish, confirming a feeding signal. We have recorded a spawning signal at the documented time of spawning in an 18-kg male and we hope to see similar results in additional males and also females. The use of archival tags appears to hold great promise as a method for detecting feeding and spawning signals in wild fish.

We have also gained experience with several models of archival tags provided by Wildlife Computers Inc. and Lotek Wireless Inc. We have tested battery life, geo-location reliability, and the tags' resistance and durability. These are important factors in deciding which archival tag to use for *in situ* deployment.

5.8. Development of vision in yellowfin tuna

Tunas are highly-active predators that rely mostly on vision to detect, track, and capture prey. The retina in tunas is highly developed, having rods and single and double cones (Margulies 1997). Resolution along the visual axis of tunas is the highest known in teleost fishes (Tamura and Wisby 1963, Nakamura 1969). Previous studies have suggested that adult tunas have only two visual pigments in their retinas (one visual pigment in the rods and one pigment in the cones), and are cone monochromats (*i.e.* color blind). Building on the earlier work on visual development in coastal scombrids, we initiated collaborative studies of vision in yellowfin with two eminent vision physiologists, Dr. Ellis Loew of Cornell University and Dr. William McFarland of the University of Washington. These studies, published by Loew *et al.* (2002), consisted of microspectrophotometric (MSP) analyses of retinal photoreceptors in larval, juvenile, and adult yellowfin. Several unexpected findings were reported. The occurrence of a third, previously unreported, violet-sensitive pigment in the single cones of larval, juvenile, and adult yellowfin was documented. In addition, larvae had not only mixtures of the two adult cone pigments (violet- and blue-sensitive), but at least a third green-sensitive pigment. With growth, the longer-wavelength, green-sensitive pigment disappears in the early-juvenile stage, and spectral sensitivity converges to the adult condition (Figure 9). Loew *et al.* concluded that their findings did not negate the earlier suggestions that adult tunas are color blind, but that certainly tunas should no longer be considered isochromats (*i.e.* they have different visual pigments in their single and twin cones). In addition, they suggested that the extended range of spectral sensitivity in larval yellowfin enhances the detection and capture success of zooplankton prey, especially if the prey exhibit increased contrast in the long wavelengths relative to the foraging background (*e.g.* they contain chlorophyll-a).

5.9. Laboratory and *in situ* growth of larval and juvenile yellowfin

For pre-recruit life stages, it is not the mortality rate (M) alone that determines stage-specific survival, but also the ratio of mortality/growth (M/G), the stage-specific or 'physiological' mortality rate (*i.e.* mortality per unit of growth) (Houde 1997). Small variability in either the instantaneous mortality or specific growth rates can generate major changes in stock level at defined stages. Growth variability alone has the potential to influence stage durations and cumulative mortality during the larval and juvenile life stages (Houde 1989). We have focused much of our early experimental efforts with yellowfin on investigations of growth dynamics during the larval and early-juvenile stages.

Since 1997, we have studied growth in the laboratory of yellowfin larvae and juveniles reared from eggs from our yellowfin broodstock. We have investigated the effects of food availability, water temperature, and other physical factors on the survival and growth of yellowfin larvae and juveniles up to 65 days after hatching. Early-larval growth (the first week) is exponential in length and weight (<0.3 mm day⁻¹ in length and 20 to 30% body weight day⁻¹), but growth increases significantly during the late-larval and early-juvenile stages (>0.5 mm day⁻¹ and ca. 30-50% body weight day⁻¹) (Figures 10 and 11). Yellowfin larvae become piscivorous at around 6.5 mm SL, and the timing of the onset of piscivory probably determines, in part, an individual's growth potential. Laboratory cohorts that are early piscivores (ca. 6.0-

7.0 mm SL) grow more rapidly, and individuals that remain zooplanktivorous lag in growth and/or are cannibalized. The fastest-growing laboratory cohorts appear to be influenced more by high water temperatures and/or lower stocking densities (see following discussions of density-dependent growth), and the slowest-growing cohorts appear to be affected more by higher stocking densities and/or low water temperatures. Our preliminary trials have indicated that density dependence in growth probably extends into the early-juvenile stage. During the larval stage, even small amounts of wild microzooplankton in the diet may promote more rapid growth rates when background food levels of cultured prey are low. In comparison with growth rates of field-collected yellowfin, our most rapid laboratory growth rates to date have been 12% less than those of the slowest-growing group in the field; however, the sizes at age of the laboratory fish approach those of the field-collected fish shortly after a piscivorous diet is introduced (Figure 12).

Survival and growth during the early-juvenile stage appear to be most strongly affected by diet, and may be secondarily influenced by water temperature and fish density. By about 30 days after hatching, survival in the laboratory is generally less than 1%, although survival of individual cohorts has been as high as 5 to 10%. We have reared experimental cohorts of juveniles for up to 65 days after hatching, and the longest time we have reared an individual is 100 days after hatching. We plan to explore further the interactive effects of density, temperature, and diet on the growth and survival of juveniles.

During the wet seasons of 1990, 1991, 1992, and 1997 we collected yellowfin larvae by dip net and night light to examine the temporal variation of *in situ* growth in the Panama Bight (Wexler *et al.* 2007). *Thunnus* sp. larvae are difficult to differentiate among species, and in the EPO, yellowfin and bigeye larvae can be differentiated only by mtDNA or allozyme analyses (Graves *et al.* 1988, Chow and Kishino 1995). In our study, we were able to identify the larvae as yellowfin by mtDNA analyses. Lang *et al.* (1994) reported on the growth of yellowfin larvae in the Gulf of Mexico, but the larvae were younger than those in our study, and the identifications were not definitive. Wexler *et al.* reported that plankton availability in the Panama Bight appeared to strongly influence growth of yellowfin larvae. The highest and lowest plankton volumes estimated from ichthyoplankton surveys (see Section 4.5) corresponded with the highest and lowest growth rates and mean sizes at age of larvae collected in 1990 and 1991, respectively. Water temperature, although a potent physical factor in growth dynamics, did not appear to influence interannual differences in growth of larvae during the reduced upwelling seasons, when mean sea-surface temperatures ranged from 27.6° to 29.1°C. High densities of larval fish were also prevalent in the ichthyoplankton tows during the 1991 wet season and intra- and inter-specific competition for limited food resources may have been the causal factor of slower growth of larvae during that period (*i.e.* density-dependent growth).

5.10. Laboratory studies of the effects of physical factors and larval density on growth and survival of yellowfin larvae

Our *in situ* and experimental studies have indicated that prey availability and composition are very important in controlling growth and survival of yellowfin larvae and early juveniles. During our early laboratory studies, we had also identified several physical factors, including water temperature, dissolved oxygen, microturbulence, and light intensity, that exhibited strong potential for affecting major changes in survival and growth. We also found that larval density affected growth. Beginning in 1997, we conducted a series of laboratory experiments to examine the potential effects of these factors on larval growth and survival.

Water temperature can play an important role in the timing of yellowfin spawning, and can have significant effects on egg size, egg stage duration, larval size at hatch, and yolk-sac larval duration (Margulies *et al.* in press). The influence of water temperature on egg and larval traits can ultimately influence growth dynamics during later stages (Houde 1997). In addition, water temperature and dissolved oxygen levels are very important in setting physiological limits to spawning, egg and larval development, and, ultimately, the physical limits to distribution in the ocean. We conducted a series of

laboratory experiments in 2004 and 2005 to examine the lethal limits of water temperature and dissolved oxygen on yellowfin eggs and larvae. The results indicated that first-feeding larvae are not capable of feeding and surviving at water temperatures $\leq 20^{\circ}\text{C}$ during the first day of feeding and at temperatures $\geq 34^{\circ}\text{C}$ after the first 2 days of feeding; however, they are capable of surviving at 21°C and 33°C for up to 3 days after first feeding. The eggs appear to develop and hatch normally at water temperatures between 19° and 20°C or between 32° and 35°C , but the yolk-sac larvae that survive appear malformed, with little movement, during the first 18 hours after hatching at water temperatures $\leq 20^{\circ}\text{C}$ or $\geq 34^{\circ}\text{C}$. Hatching is delayed in eggs incubated at 36°C and all of the larvae die either prior to hatching or shortly thereafter. Results of the dissolved oxygen experiments indicated that, at an average water temperature of 27.1°C , larvae during the first 8 hours of feeding are able to survive at dissolved oxygen levels of more than 2.20 mg/L (more than 33% oxygen saturation). At mean water temperatures of 27.9° to 28.3°C , yellowfin eggs appear to develop and hatch normally when incubated at mean dissolved oxygen levels of 2.7 mg/L (41% of oxygen saturation), 2.0 mg/L (31% of oxygen saturation), and 1.7 mg/L (25% of oxygen saturation); however, the yolk-sac larvae do not survive beyond 12 to 15 hours after hatching at mean dissolved oxygen levels ≤ 2.0 mg/L.

Several studies from different oceans have indicated that yellowfin larvae are found only at depths above 50 m within the mixed layer, with peak densities being found mostly in the upper 15 m (Leis *et al.* 1991, Boehlert *et al.* 1992, Boehlert and Mundy 1994). From our recent experiments with temperature and oxygen, we believe that the vertical distribution, and to some extent the horizontal distribution, of yolk-sac and first-feeding yellowfin larvae is determined by the physical limitations of water temperature and dissolved oxygen. The physical data collected from our nearshore ichthyoplankton surveys between 1989 and 1991 reflect the seasonal differences of temperature and oxygen levels at depth (Figure 13) (Owen, 1997). Based on our experimental results, critical depths for survival of yellowfin larvae would occur above 30 m during the dry season and above 50 m during the wet season, based on water temperature alone. Oxygen deficits would probably not occur at depths above 50 m.

Feeding success of marine fish larvae can be influenced by the levels of wind-induced microscale turbulence in the feeding environment (Rothschild and Osborn 1988, Cury and Roy 1989). The probability of prey encounters and feeding success of larvae may increase with increases in wind-induced microscale turbulence up to an asymptotic wind and turbulence level and then decrease at higher levels of turbulence (MacKenzie *et al.* 1994). Our studies of feeding of yellowfin larvae in Japan in 1992 indicated a strong potential for the influence of microscale turbulence on the feeding success of yellowfin larvae. We expanded these investigations during 1997-2000 in a series of laboratory experiments at the Achotines Laboratory which examined the survival of yellowfin larvae during the first week of feeding under conditions of variable microturbulence. Turbulence in the experimental tanks was measured as the mean horizontal velocity of a neutrally-buoyant surface drogue; in 1999 and 2000 these velocities were calibrated against velocities measured at depth with a microacoustic Doppler current meter. The analysis of the data is in progress, but preliminary results are reported by Kimura *et al.* (2004).

Our preliminary analysis of the 1997-2000 data indicates that survival during the first week of feeding is up to 2.7 times higher at intermediate levels of microturbulence (ca. $1 - 2.4 \times 10^{-8} \text{m}^{-2}\text{s}^{-3}$ as an energy dissipation rate) than at lower or higher levels of turbulence (Figure 14). Using a boundary layer model that equates microturbulence levels in the mixed layer of the ocean with wind speed, we have made preliminary estimates of optimal wind speeds for larval yellowfin survival, based on assumed depths for maximum concentration of the larvae (estimated from larval field survey data in the literature). The optimal wind speed estimates are: (1) maximum concentration of larvae at 10 m: $2.6-3.5 \text{ m sec}^{-1}$; and (2) maximum concentration of larvae at 20 m: $3.2-4.5 \text{ m sec}^{-1}$. These are the first such estimates reported for tuna early life stages, and the first estimates of microturbulence effects on survival of marine larvae based on extended experimental trials. We are currently comparing our experimental estimates of optimal wind speeds to historical data on wind speeds in the tropical EPO. Our goal is to identify patterns of association between wind-induced mixing and yellowfin recruitment.

The studies conducted at the Achotines Laboratory on the development of vision in yellowfin have suggested that larval feeding success (and ultimate survival) is influenced by the spectral characteristics of the feeding environment and prey organisms (Loew *et al.* 2002). We have also investigated the effects of light intensity on feeding success and survival of yellowfin larvae. In a 2002 experiment, we exposed larvae to three light intensities and estimated survival after 10 days of feeding. The highest light intensity supported 3 to 10 times the survival of that at medium or low light intensities. These results indicate that light intensity, as well as spectral characteristics of the feeding environment, plays a role in the feeding success of yellowfin larvae. When the experimental results are fully analyzed, we will compare the optimal light intensity estimated in the laboratory to light levels measured in ocean mixed-layer waters in order to predict optimal depths for yellowfin larval feeding success.

Growth rate variability in the larval and juvenile stages of marine fishes is substantial, and has strong potential to influence the *M/G* ratio during pre-recruit life stages (Houde 1997). Density-dependent regulation of growth has been identified as a significant potential factor in the control of pre-recruit survival (Shepherd and Cushing 1980, Rothschild 1986). For yellowfin, density-dependent mortality may weaken any relationship between egg production and recruitment consistent with the IATTC stock assessment of yellowfin (Maunder and Harley 2005). It is possible that density-dependence in feeding success and growth during the larval stage could contribute to variations in pre-recruit survival of yellowfin. Our experimental results have indicated an early onset of substantial density-dependent growth of yellowfin during the first 2.5 weeks after hatching. Increases of 2-4 times in larval density have resulted in growth deficits up to 35% during larval stages (Figure 15). We have also noted strong indirect evidence of density-dependent growth in larval cohorts during certain years in the Panama Bight (Wexler *et al.* 2007). The potential for density-dependence in growth and/or survival in early-juvenile stages of yellowfin is probably significant, and will require further study.

5.11. Feeding studies of yellowfin larvae and juveniles in the laboratory

Feeding patterns in larval fishes reflect the metabolic and growth characteristics of pre-recruit life stages. Marine fish larvae forage selectively, usually increasing the average size of prey while continuing to include abundant, smaller prey items in the diet (Houde 1997). Scombrid early life history is characterized by fast growth, high metabolic rates, and a foraging pattern of adding relatively scarce, large prey in the diet, which often results in the early onset of piscivory (Hunter 1981, Margulies *et al.* 2001). Since 1997, we have conducted laboratory experiments at the Achotines Laboratory designed to examine the food selectivity and diel feeding abilities of yellowfin larvae and early juveniles. As mentioned previously, our preliminary studies in Japan during 1992 indicated that yellowfin larvae were selective feeders, and increased the average size of prey with larval growth. At the Achotines Laboratory we expanded these laboratory studies to examine food selectivity patterns of first-feeding and older (1-2 weeks of age) yellowfin larvae. Laboratory trials were also conducted to examine the diel feeding abilities of yellowfin larvae up to 3 weeks of age. The analysis of the food selectivity data is still in progress, but preliminary results of the diel feeding trials indicate that yellowfin feed only during daylight hours throughout the larval stages. When the laboratory feeding results are fully examined, we will have a much better understanding of the food selection patterns and the basis for early piscivory in yellowfin larvae, and we will compare the laboratory findings for yellowfin with the diets and food selectivity patterns exhibited by scombrid larvae *in situ* from our early larval surveys in the Panama Bight.

5.12. Key research findings from studies of yellowfin tuna

The studies of the reproductive biology and early life history of yellowfin tuna conducted since 1996 at the Achotines Laboratory have contributed significantly to our understanding of yellowfin biology and the factors that influence pre-recruit survival. The key findings to date of the yellowfin research program are as follows.

1. A spawning population of yellowfin was established, which represents the first occurrence worldwide of sustained spawning by yellowfin in land-based facilities. The spawning dynamics, growth,

genetics, physiology, and early life history of yellowfin were studied over multiple years.

2. Methods for the successful capture, transfer, and husbandry of yellowfin were developed. A diet of 50% squid and 50% fish, such as thread herring or anchoveta, seems to provide adequate nutrition for broodstock yellowfin and fuels almost continuous spawning. Estimates of growth in length of captive fish decreased with increasing lengths of the fish, ranging from 8 to 48 cm year⁻¹ during 1996-2001 and from 4 to 65 cm year⁻¹ during 1999-2006. Growth in weight was estimated at 9 to 26 kg year⁻¹ during 1996-2001 and 1 to 25 kg year⁻¹ during 1999-2006, and these estimates also decreased with increasing weights of the fish. The stable environment of onshore tanks seems to promote good health and sustained spawning of yellowfin.
3. The spawning patterns of yellowfin in relation to physical and biological factors were described. The broodstock fish spawned as long as they received adequate daily food rations and water temperature was >23.3° C. Water temperature appears to be the main exogenous factor controlling the occurrence and timing of spawning for yellowfin. Courtship and spawning behaviors are ritualized, and yellowfin appear to have the ability to adjust the timing and final maturation processes of spawning based on minute changes in water temperature. For example, yellowfin adjust the time of day of spawning in relation to water temperature, resulting in a narrow range for the time of day at hatching. This pattern appears to be adaptive as a means to maximize the survival of yolk-sac larvae by maintaining the timing of hatching during periods of dimming light or darkness (late afternoon and early evening).
4. The age at first spawning for female yellowfin in captivity was estimated at 1.3 to 2.8 years, averaging slightly less than 2.0 years. Over short periods (<1 month), spawning females increased their egg production from 30 to 234% in response to short-term increases in daily ration of 9 to 33%. The ability to increase egg production in response to greater food abundance has adaptive significance, and would allow yellowfin to exploit patchy food resources and periodic increased production in the ocean.
5. Genetic monitoring of the spawning yellowfin was conducted by comparing mitochondrial DNA variation of spawning females with those of their eggs and larvae. The analysis provided the identification of individual spawning females and estimates of their spawning periodicity. Individual females are capable of spawning daily for extended periods of time as long as they remain in the appropriate range of water temperatures (>24° C) and have sufficient food. The genetic variation of the mtDNA *D-loop* region of yellowfin appears to be so high that it is probably useful not only for identification of individual fish but also for investigations of population structure in the wild.
6. Water temperature is significantly, inversely related to egg size, egg stage duration, larval size at hatch, and yolk-sac larval duration of yellowfin. Fertilized yellowfin eggs average 1.0 mm in diameter and 43 µg in dry weight. Hatched larvae average 2.5 mm SL and 30 µg in weight, while larvae at first feeding average 3.3 mm SL and 22 µg in weight. The growth potential from early-stage larva to size at recruitment (30 cm, 6 months of age) is very high, approaching 10⁶ to 10⁷ times.
7. The development of visual sensitivity in larval, juvenile, and adult yellowfin was described. Adult yellowfin have at least three visual pigments in the retina, and may be able to distinguish among colors (*i.e.* they may not be color blind). Larvae have not only mixtures of the adult cone pigments (violet- and blue-sensitive) but also a third green-sensitive pigment. Juvenile sensitivity tends to converge to the adult condition. The spectral sensitivity of adult yellowfin is probably adaptive to the ambient bluish light characteristic of the open sea, while larval sensitivity over an extended spectral range is probably adaptive for planktivory in mixed layer habitats.
8. Laboratory experiments and the analysis of growth *in situ* have indicated that early-larval growth (the first week) is exponential in length and weight (<0.3 mm day⁻¹ in length and 20 to 30% day⁻¹ in dry weight), but growth rates increase significantly during the late-larval and early-juvenile stages (>0.5

mm day⁻¹ in length and ca. 30-50% day⁻¹ in dry weight). Water temperature has strong potential for influencing metabolic rates and physiological processes, but its effect on somatic growth of yellowfin during early life stages may be secondary to food availability. Prey levels and composition are important in controlling larval and juvenile growth. Growth increases significantly in the laboratory during the late-larval stage (>7 mm SL), when yellowfin switch from a zooplankton diet to a fish diet. In nature, the early onset of piscivory probably aids in increasing growth and reducing susceptibility to predation.

9. Yellowfin larvae exhibit density-dependent growth during the first two weeks of feeding in the laboratory. Increases in larval density of 2-4 times result in growth deficits of up to 35% in weight. The potential for density-dependence in growth and/or survival in early-juvenile stages is unknown, but potentially significant. Density-dependence in growth has the potential for at least coarse control of pre-recruit survival in yellowfin. We have detected strong indirect evidence of density-dependent growth *in situ* of larval yellowfin during certain years in the Panama Bight.
10. Laboratory investigations have indicated that microscale turbulence strongly affects the feeding success and survival of yellowfin larvae during the first week of feeding. Intermediate levels of microscale turbulence (ca. $1 - 2.4 \times 10^{-8} \text{m}^{-2}\text{s}^{-3}$ as an energy dissipation rate) support survival rates after one week of feeding that are over 2.7 times higher than those at lower or higher turbulence levels. These optimal turbulence levels for feeding, when converted to wind-induced mixing rates in the ocean, are equivalent to wind speeds of 2.6 to 4.5 m sec⁻¹ (based on the assumption that yellowfin larval abundance is greatest at either 10 or 20 m depth). We are currently comparing our experimental estimates of optimal wind speeds to historical data on wind speeds and yellowfin recruitment in the tropical EPO. Our goal is to identify patterns of association between wind-induced mixing and yellowfin recruitment.
11. The lethal limits of water temperature and dissolved oxygen on yellowfin eggs and larvae were estimated in laboratory trials. The results have indicated that the vertical distribution, and to some extent the horizontal distribution, of yolk-sac and first-feeding larvae in the ocean is determined by the physical limitations of water temperature and dissolved oxygen. In the Panama Bight, critical depths for survival of yellowfin larvae would occur above 30 m during the upwelling season (when mixed layer depth is shallower), and above 50 m during the reduced upwelling season, based on water temperature alone.
12. Trials have been conducted at the Achotines Laboratory to investigate the feasibility of developing bycatch-reduction devices, such as sorting grids and bubble curtains, which will allow smaller fish to escape from tuna purse seines while retaining larger fish. Results from the trials have indicated that yellowfin swim through sorting grids and are reluctant to pass through bubble curtains. Both of these techniques are worthy of further trials under field conditions to test their effectiveness as sorting methods to reduce the mortalities of unmarketable fish.
13. Tests have been conducted at the Achotines Laboratory to examine the use of implanted archival tags for detection of feeding and spawning events of yellowfin. Preliminary results indicate that the archival tags can detect changes in peritoneal temperature that correspond to both feeding and spawning signals. This technology holds great promise for the detection of feeding and spawning signals in wild fish, so the tests are continuing.

5.13. Recommendations for future research

Research on the biology and early life history of yellowfin will continue to be the main focus of studies at the Achotines Laboratory. We will integrate the knowledge gained over the past nine years to design new or revised research projects to study the reproductive biology and early life history of yellowfin. We recommend the following topics of study as the main emphasis of research.

1. The yellowfin broodstock should be maintained to promote continued year-round spawning. Hatched

eggs and larvae would continue to be used in our experimental program in the laboratory.

2. Experimental studies of the early life history of yellowfin should continue to be the main focus of research at the Achotines Laboratory. Our research over the past nine years has yielded important insights into the pre-recruit life stages of yellowfin. Our experimental approach has involved investigations of single-process factors (*e.g.* temperature, food, microturbulence, larval density) that influence pre-recruit survival. Increasingly, the research program should begin to focus on multi-process effects on growth and survival during the larval and juvenile stages. We recommend the following for further study.

a. Mortality/growth dynamics

Spatial and temporal variability in mortality/growth (M/G) should be studied in relation to environmental factors believed to affect recruitment in yellowfin. Stage-specific shifts in mortality and growth, and the variability associated with such shifts, may allow us to identify transitional stages during pre-recruit life. There may be relationships between stage- or size-specific M/G and recruitment levels (Houde 1997). From our earlier research, we have a good understanding of growth potential and variability of yellowfin larvae and early-juveniles. We now should develop a more complete understanding of daily mortality processes during the larval and early-juvenile stages and how mortality is influenced by the following factors:

- food availability and composition;
- water temperature;
- the interaction of food availability and water temperature;
- the interaction of microscale turbulence and larval density;
- the interaction of larval growth and size-selective predation.

We suggest that our experimental approach, which is focused on the level of the individual or experimental cohort, may prove effective in providing insights into pre-recruit survival that would allow inferences of population-level dynamics. Our single-process approach to studying the early life history of yellowfin should be integrated into multi-factor experimental studies. These studies would examine how key environmental factors interact to influence pre-recruit survival. The results would be integrated into models that can be used to predict pre-recruit survival of yellowfin based on measurable environmental and biological factors (*e.g.* spawning biomass, water temperature, wind-induced mixing, secondary production).

b. Experimental cohort production

One useful approach to the study of M/G dynamics is the examination of experimental cohort production, whereby experimental groups of larvae or early-juveniles are exposed to key environmental factors and overall cohort production (calculated as cohort biomass times growth rate) is measured. This approach takes into account the interactive effects of daily mortality and growth, and is useful in predicting important transitional stages for overall cohort biomass, which can be a key indicator of cohort strength. We have conducted several preliminary experiments on yellowfin larvae, using cohort production analysis, and we suggest that this approach be expanded in future experimental designs.

c. Mesocosm and large tank studies

We recommend increased emphasis on the study of juvenile growth dynamics and nutrition at the Achotines Laboratory. Preliminary trials with yellowfin have indicated that density dependent growth may be significant during the early juvenile stage and these studies should be expanded. We now have the ability to produce large numbers of early-juvenile yellowfin that can be tested in replicated experimental trials. Tank volumes would be an important consideration in juvenile studies.

From our laboratory trials, we have found that yellowfin juveniles are highly mobile and very proficient at feeding on prey patches in small tanks. The sizes of experimental tanks that we have used to date (700 to 1200 L volume) are sufficient to allow moderate foraging of larvae and transforming juveniles. For investigations of early-juvenile behavior, feeding, and nutrition, we recommend the use of larger tanks (4000 L and larger) to provide more realistic foraging volumes. This should include the use of mesocosms or bag enclosures anchored in nearshore waters in the vicinity of the Achotines Laboratory. Juvenile studies would also allow comparisons between laboratory-reared juveniles and wild fish of similar age and/or size collected by nightlighting.

d. Comparisons to stock assessment findings

The IATTC maintains a comprehensive time series of estimates of yellowfin recruitment to the surface fisheries of the EPO. The ability to forecast yellowfin recruitment, prior to the age at entry to the fishery (6 months), would be a powerful stock assessment tool. The ultimate goal of our experimental program on yellowfin early life history is the contribution of new insights into recruitment variability. The experimental program has been productive, and we will continue to refine our investigations of pre-recruit survival. Several areas of investigation that appear especially promising as forecasting tools of yellowfin recruitment are the study of juvenile growth and examinations of wind-induced mixing in the tropical EPO. A juvenile growth index, perhaps estimated quarterly in the Panama Bight, may prove useful as an index of recruitment strength. This type of sampling program to estimate *in situ* juvenile growth could be developed at the Achotines Laboratory via quarterly or seasonal sampling and aging of juveniles collected by nightlighting. We have conducted similar analyses of *in situ* growth during selected years in the Panama Bight, and we found some localized correspondence between high growth rates of larvae and recruitment estimates (Wexler *et al.* 2007). Microscale turbulence, usually a result of wind-induced mixing, produces order-of-magnitude differences in survival of first-feeding yellowfin larvae in laboratory experiments. Using historical wind data and recruitment estimates, we are currently examining potential associations between wind-induced mixing and yellowfin recruitment in the EPO. In addition, our experimental studies of the effects of microscale turbulence should be expanded to examine older life stages (late larvae and early juveniles), and the interactive effects of turbulence and key biological factors (*e.g.* fish density, food levels) on yellowfin larval survival.

3. Studies of the visual development of yellowfin have been productive, and should be continued. Physiological and behavioral studies of larvae and early juveniles could be expanded to further develop our understanding of the importance of vision in feeding success.
4. Comparative studies of the early life history of yellowfin and bluefin tuna are feasible, and should be pursued. The IATTC's early life history research group has a longstanding research relationship with Japanese scientists conducting research on tunas (Margulies *et al.* 2001; Wexler *et al.* 2001; Niwa *et al.* 2003; Kimura *et al.* 2004). The IATTC's Achotines Laboratory, the Amami Station of the Fisheries Research Agency (FRA) of Japan, and the Fisheries Laboratory of Kinki University in Japan are currently the only research facilities in the world at which sustained spawning and rearing of yellowfin and bluefin tuna occur. We recommend pursuing joint studies of early life dynamics with scientists of these other institutions, perhaps in collaboration with other Japanese scientists. Interest in joint comparative studies of yellowfin and bluefin early life history is high among our Japanese colleagues (Shukei Masuma, FRA; Shingo Kimura, University of Tokyo; pers. comms.).
5. Sub-adult and adult yellowfin collected in nearshore waters of the Panama Bight that are not used for broodstock should be used in tank experiments to study research topics of interest to the IATTC or outside scientists. The tank facilities at the Achotines Laboratory can support replicate or duplicate experimental treatments of older yellowfin. In recent years, we have supported studies of the behavior and physiology of adult yellowfin, and these types of studies should be expanded. The experimental studies could investigate the nutrition, behavior, and genetics of yellowfin. The early

life history group has developed informal collaborations with Dr. Del Gatlin and colleagues at Texas A&M University, and Dr. Daniel Benetti and graduate students at the University of Miami, to study the nutrition of adult and juvenile yellowfin, and these collaborations should be continued.

6. Broodstock yellowfin in the large tank (Tank 1) at the Achotines Laboratory can be manipulated in the short term to investigate the genetics and physiology of spawning fish. Our collaboration on genetic studies with Dr. Seinen Chow, of the National Research Institute of Far Seas Fisheries of Japan, should be continued. Our broodstock yellowfin could be used to develop quicker and more sophisticated genetic analyses. Nearly real-time monitoring of genetic variation and spawning profiles for yellowfin could be developed via analyses such as microsatellite DNA markers or single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis.
7. The development of additional broodstock of tunas, such as bigeye or skipjack, is feasible at the Achotines Laboratory. Bigeye broodstock could be obtained on an opportunistic basis from either commercial purse-seine vessels or a pole-and-line vessel chartered for tagging studies. If fish were collected by pole-and-line vessel, they could be held in bait wells and transported from offshore waters to the Achotines Laboratory. Bigeye collected by purse seine could be towed to the Achotines Laboratory using a transport net constructed of commercial netting. Skipjack tuna are seasonally abundant in the Gulf of Panama and could be collected and transported with local charter boats. Our goal would be to have at least two tuna species (yellowfin and one other) spawning in captivity at the Achotines Laboratory.

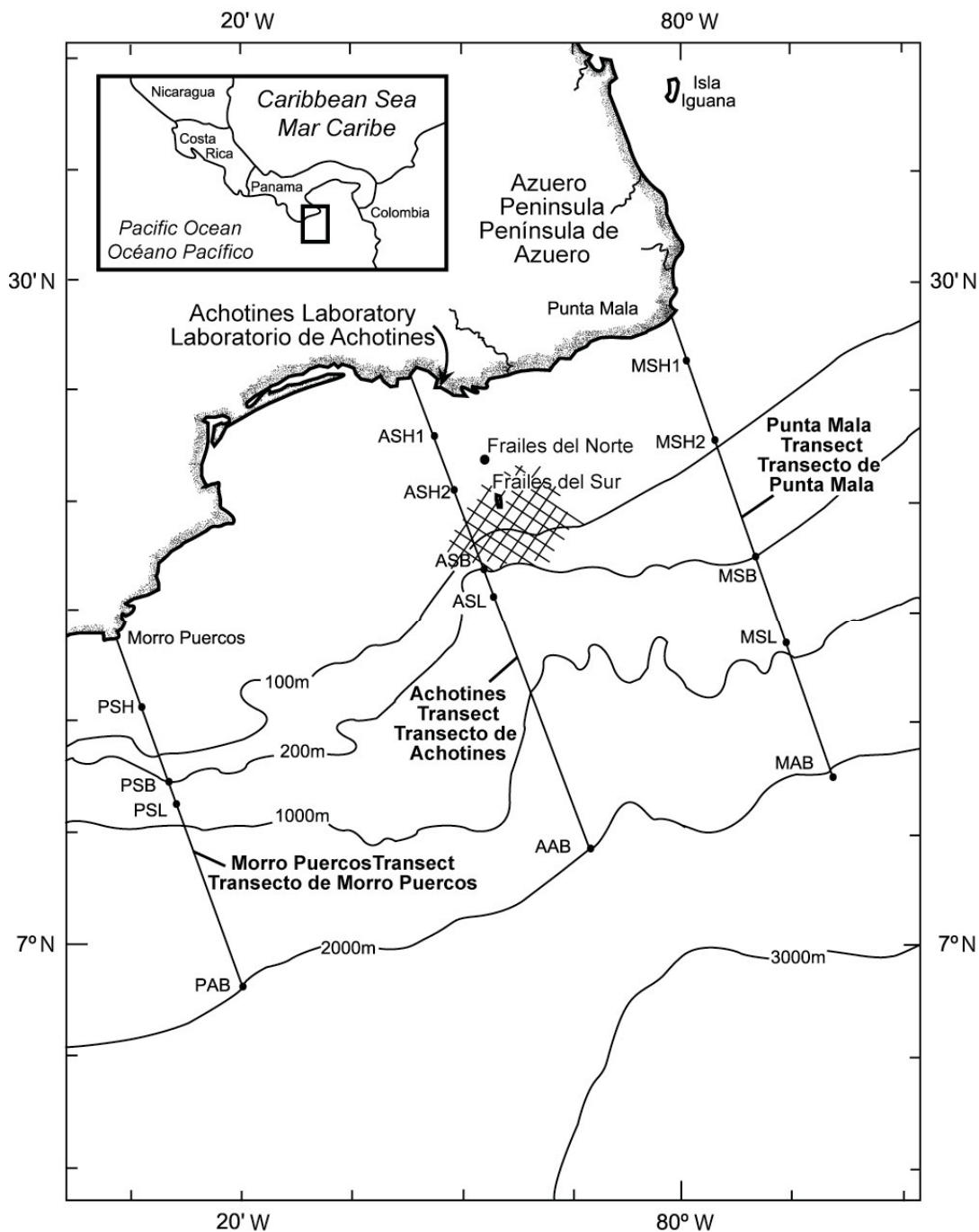


FIGURE 1. Location of the Achotines Laboratory, and locations where scombrid larvae and juveniles were collected (1986-1997; cross-hatched area) and of ichthyoplankton surveys (1989-1993). The ichthyoplankton surveys were conducted at 3 transects and 14 stations over the shelf (PSH, ASH1, ASH2, MSH1, MSH2), shelf break (PSB, ASB, MSB), slope (PSL, ASL, MSL), and abyss (PAB, AAB, MAB) (after Lauth and Olson 1996).

FIGURA 1. Situación del Laboratorio de Achotines, y lugares de captura de escómbridos larvales y juveniles (1986-1987; área sombreada) y de muestreo de ictioplancton (1989-1993). El muestreo de ictioplancton fue realizado en 3 transectos y 14 estaciones sobre la plataforma continental (PSH, ASH1, ASH2, MSH1, MSH2), el margen (PSB, ASB, MSB), el talud (PSL, ASL, MSL), y el abismo (PAB, AAB, MAB) (de Lauth y Olson 1996).

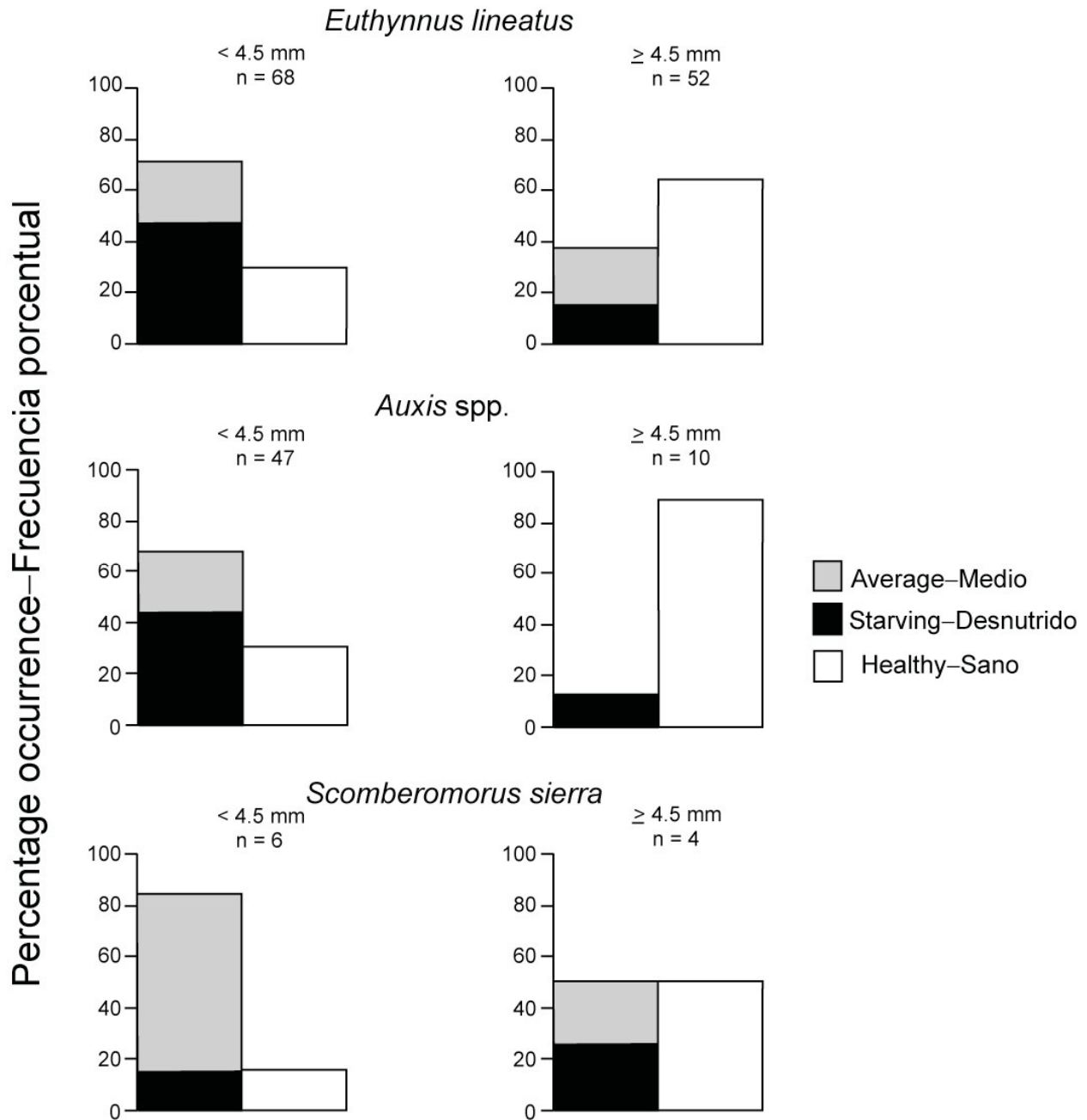


FIGURE 2. Estimates of *in situ* nutritional condition of larval scombrids in the northwestern Panama Bight during the wet season of 1988 (after Margulies 1993).

FIGURA 2. Estimaciones de la condición nutricional *in situ* de escómbridos larvales en el noroeste del Golfo de Panamá durante la temporada de lluvias de 1988 (de Margulies 1993).

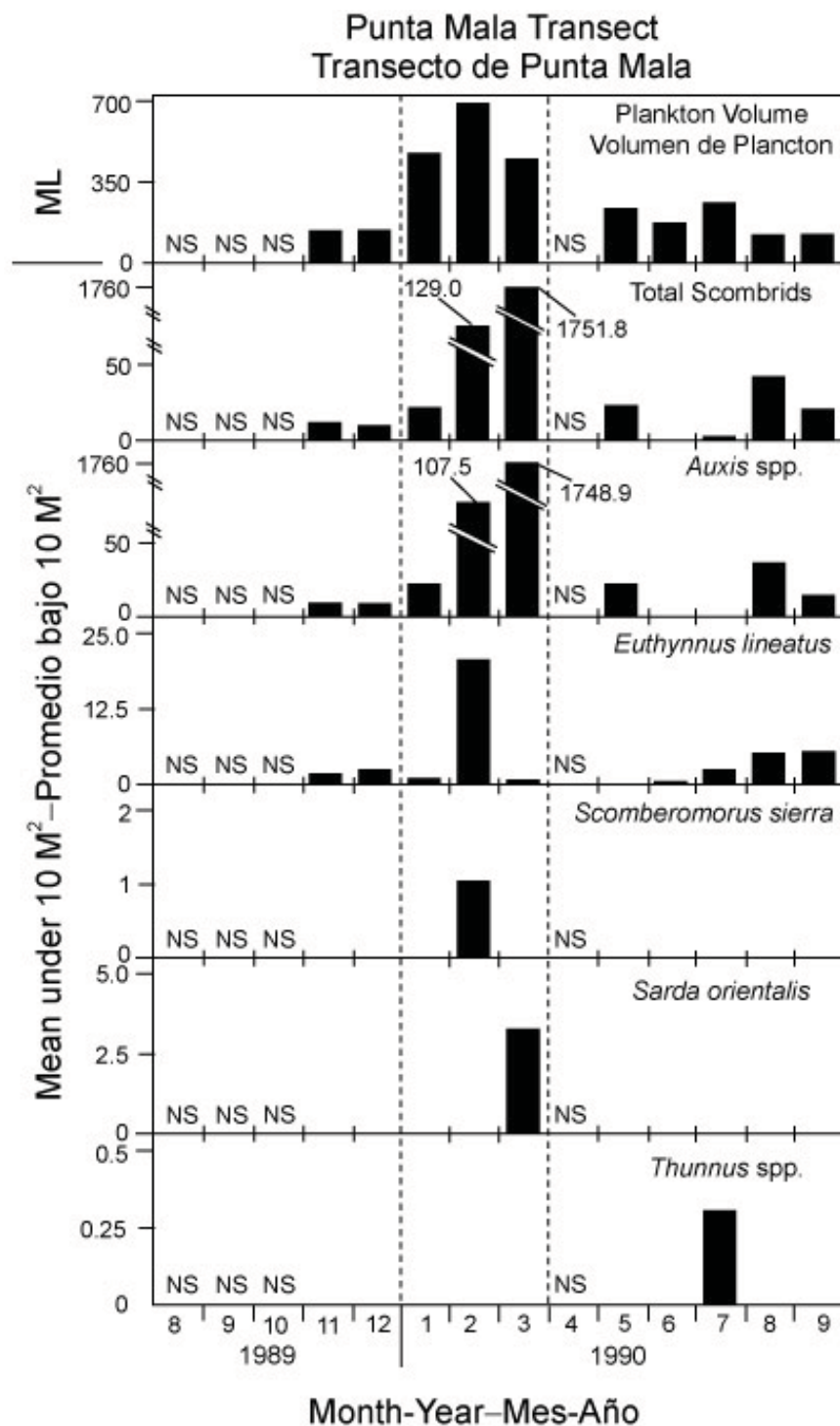


FIGURE 3. Temporal occurrence and abundance of scombrid larvae and microzooplankton in the northwestern Panama Bight during 1989-1990. Sampling was conducted along the Punta Mala Transect (see Figure 1) (from Lauth and Olson 1996).

FIGURA 3. Frecuencia temporal y abundancia de escómbridos larvales y microzooplancton en el noroeste del Golfo de Panamá durante 1989-1990. El muestreo fue realizado en el transecto de Punta Mala (Figure 1) (de Lauth y Olson 1996).

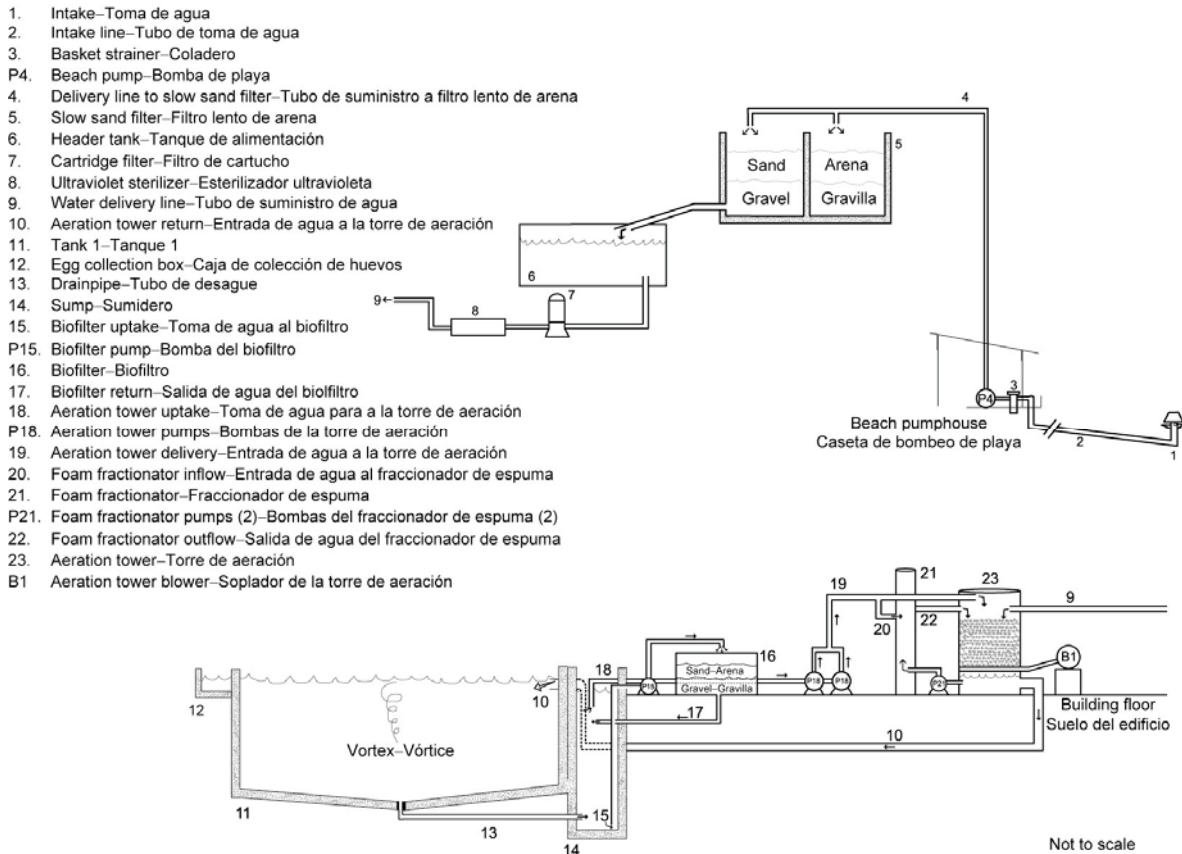


FIGURE 4. Seawater delivery and filtration systems (upper diagram) and broodstock tank (Tank 1) systems (lower diagram) at the Achotines Laboratory. The reserve Tanks 2 and 6 also have biofiltration (lower diagram), but water is not circulated through an aeration tower or foam fractionator (after Wexler *et al.* 2003). Not to scale.

FIGURA 4. Sistemas de suministro de agua de mar y de filtración (diagrama superior), y de tratamiento de agua en el tanque de reproductores (Tanque 1) (diagrama inferior), en el Laboratorio de Achotines. Los tanques de reserva (2 y 6) también cuentan con biofiltración (diagrama inferior) pero el agua no es circulada por una torre de aeración o fraccionador de espuma (de Wexler *et al.* 2003). No a escala.

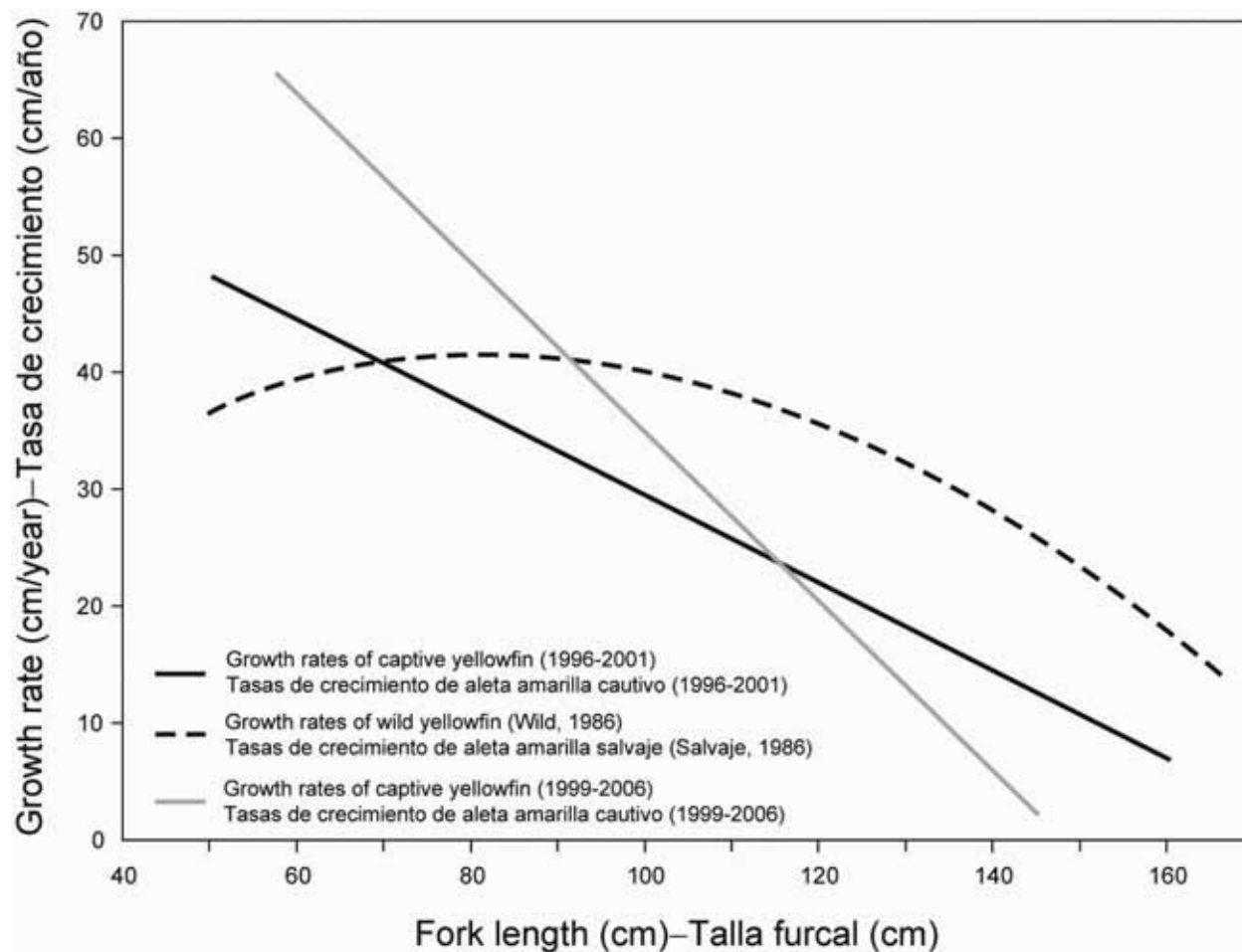


FIGURE 5. Growth rates in length of wild yellowfin in the EPO (Wild 1986) and captive yellowfin based on the parameters estimated from the growth models fitted to each group of fish.

FIGURA 5. Tasas de crecimiento en talla de aleta amarilla salvaje en el OPO (Wild 1986) y de aleta amarilla en cautiverio, basadas en los parámetros estimados de los modelos de crecimiento ajustados a cada grupo de peces.

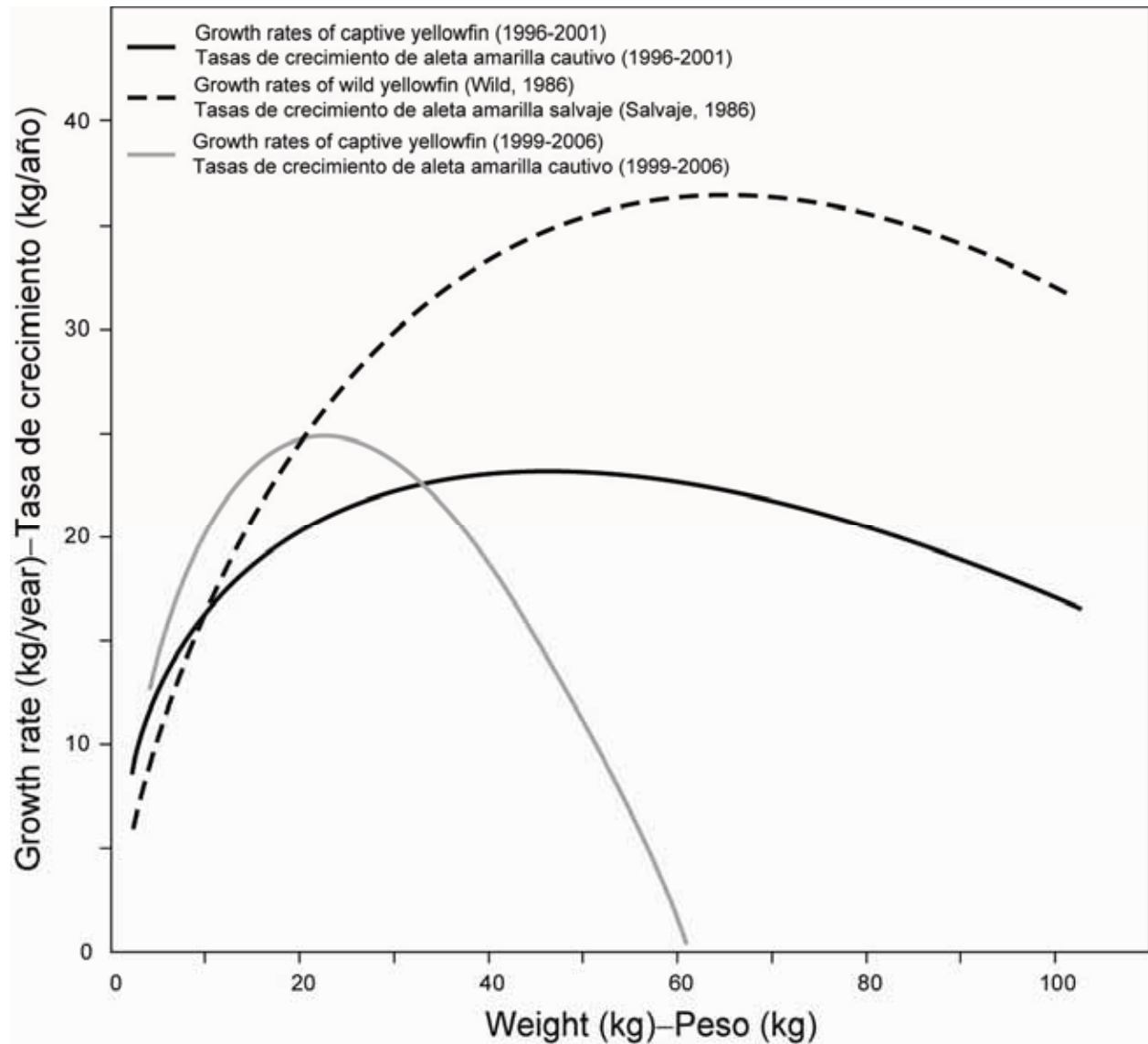


FIGURE 6. Growth rates in weight of wild yellowfin in the EPO (Wild 1986) and captive yellowfin based on the parameters estimated from the growth models fitted to each group of fish.

FIGURA 6. Tasas de crecimiento en peso de aleta amarilla salvaje en el OPO (Wild 1986) y de aleta amarilla en cautiverio, basadas en los parámetros estimados de los modelos de crecimiento ajustados a cada grupo de peces.

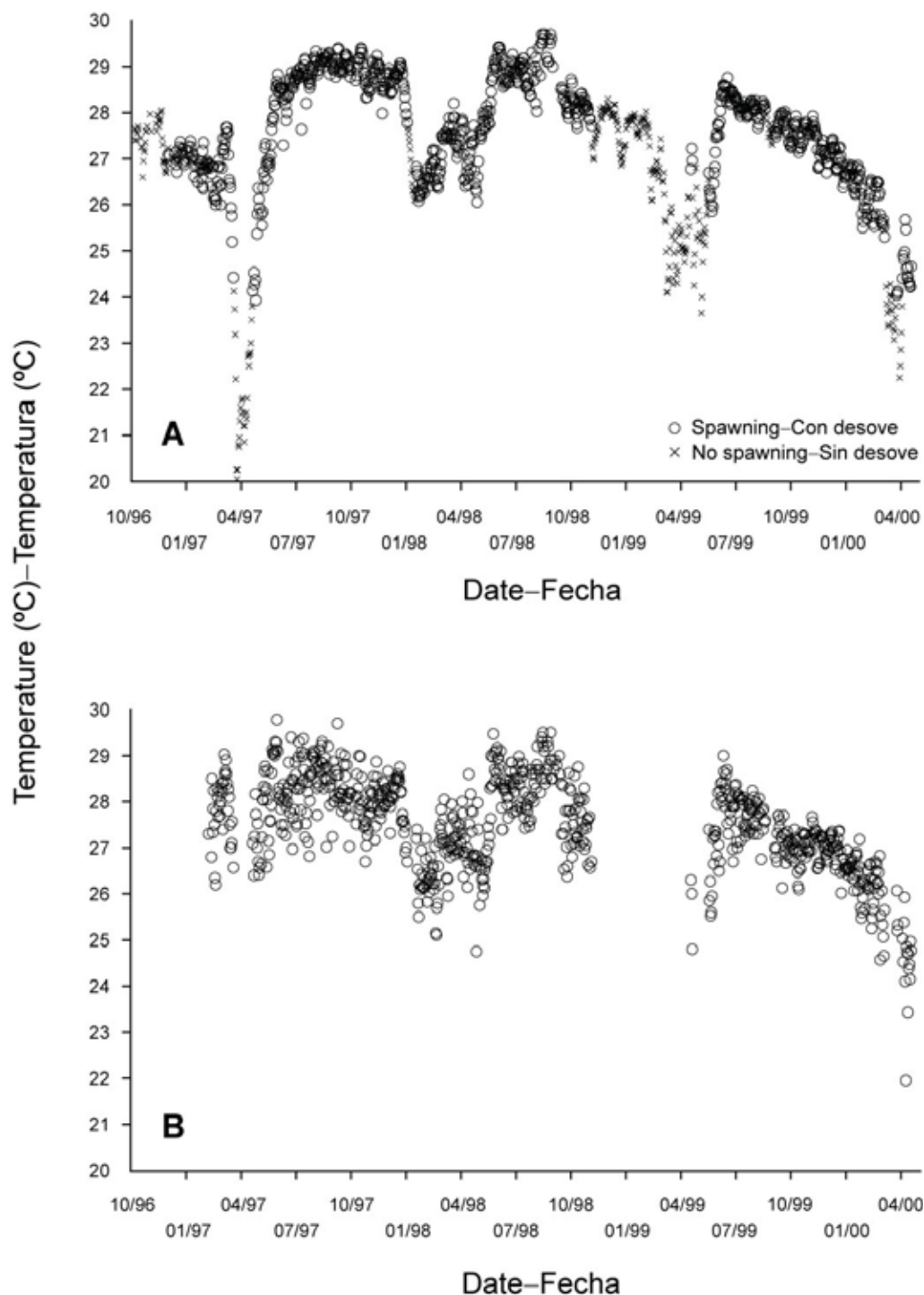


FIGURE 7. Mean daily water temperature in (A) the main broodstock tank, and (B) the incubation tanks, October 1996-March 2000. In (A), each symbol represents a date on which the yellowfin broodstock spawned (o) or did not spawn (x). In (B), each symbol represents a date on which egg incubation occurred (after Margulies *et al.* in press).

FIGURA 7. Temperatura media del agua en (A) el tanque de reproductores principal, y (B) los tanques de incubación, entre octubre de 1996 y marzo de 2000. En (A), cada símbolo representa una fecha en la cual los aletas amarillos reproductores desovarón (o) o no desovarón (x). En (B), cada símbolo representa una fecha en la cual ocurrió incubación de huevos (de Margulies *et al.* en prensa).

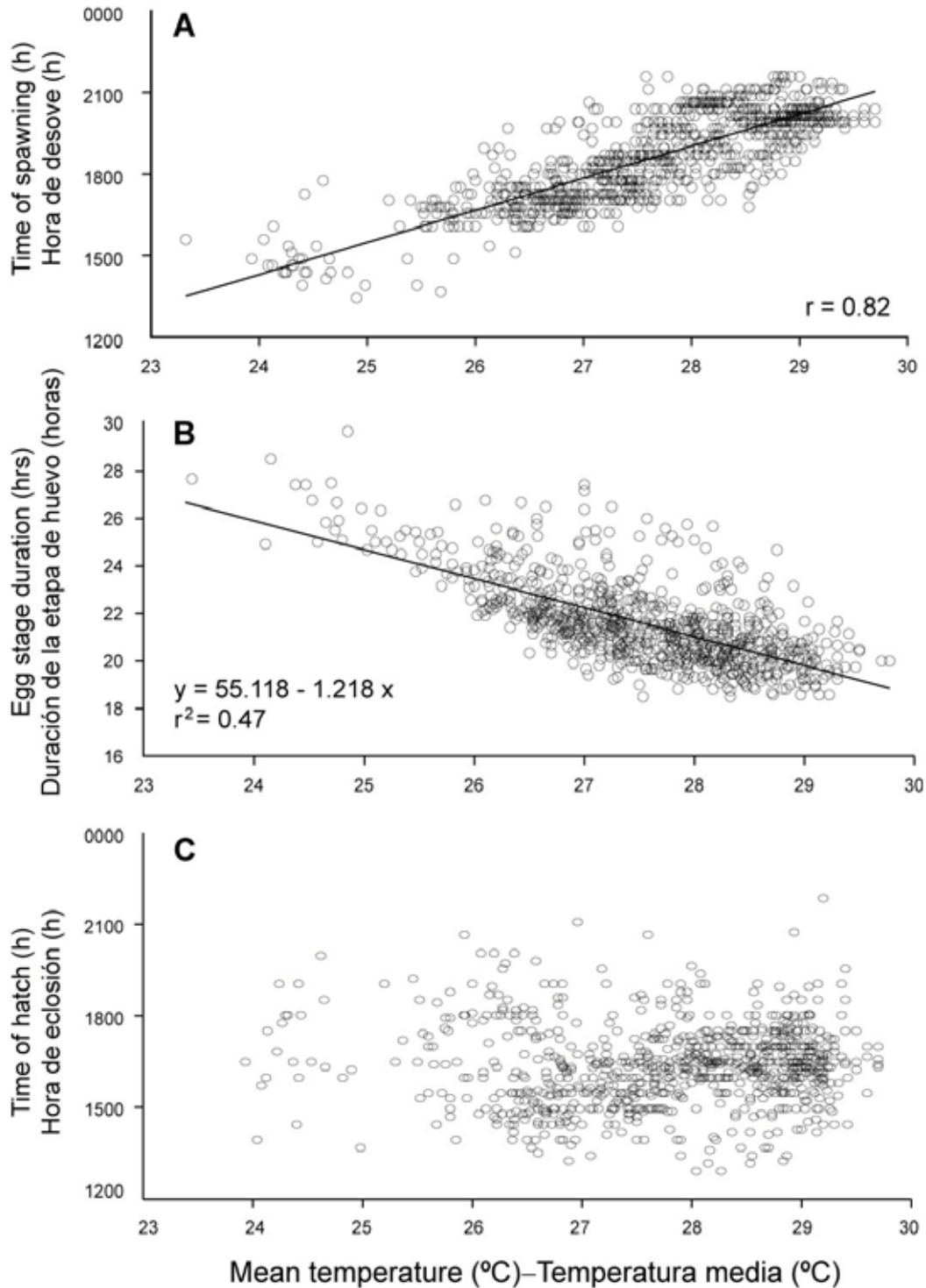


FIGURE 8. Relationship between mean daily water temperature and (A) time of day of spawning, (B) egg stage duration, and (C) time of day of hatch, for yellowfin tuna in captivity, during October 1996 through March 2000. Plotted values are daily estimates (after Margulies *et al.* in press).

FIGURA 8. Relación entre la temperatura media diaria del agua y (A) hora del día del desove, (B) duración de la etapa de huevo, y (C) hora del día de la eclosión, de atunes aleta amarilla en cautiverio, entre octubre de 1996 y marzo de 2000. Los valores graficados representan estimaciones diarias (de Margulies *et al.* en prensa).

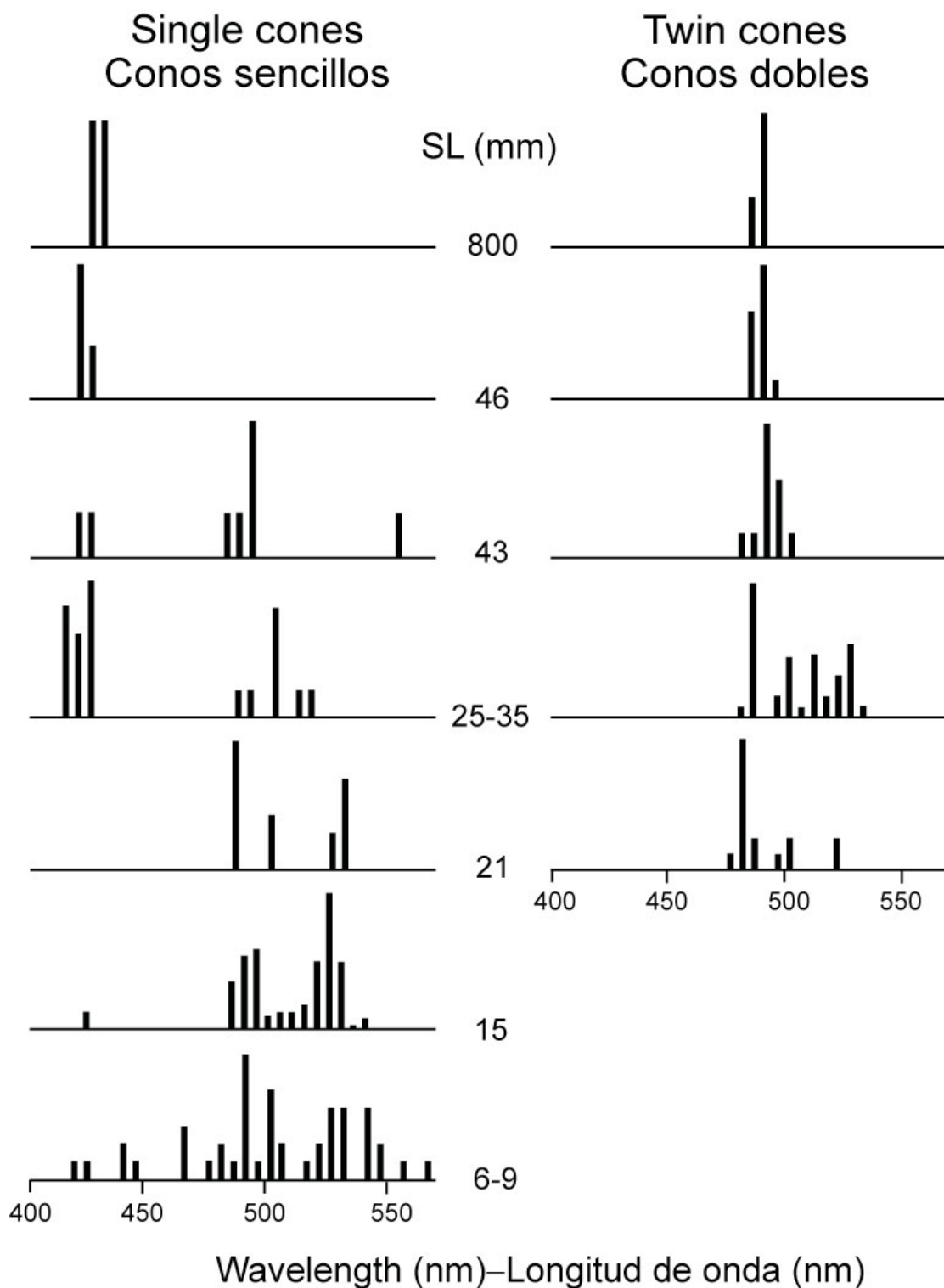


FIGURE 9. Frequency distribution of peak absorbance of single and twin cones in the retina at the standard lengths (SL) indicated for yellowfin (after Loew *et al.* 2002).

FIGURE 9. Distribución de frecuencia de la absorbancia máxima de los conos sencillos y dobles en la retina correspondiente a la talla estándar (SL) indicada del atún aleta amarilla (de Loew *et al.* 2002).

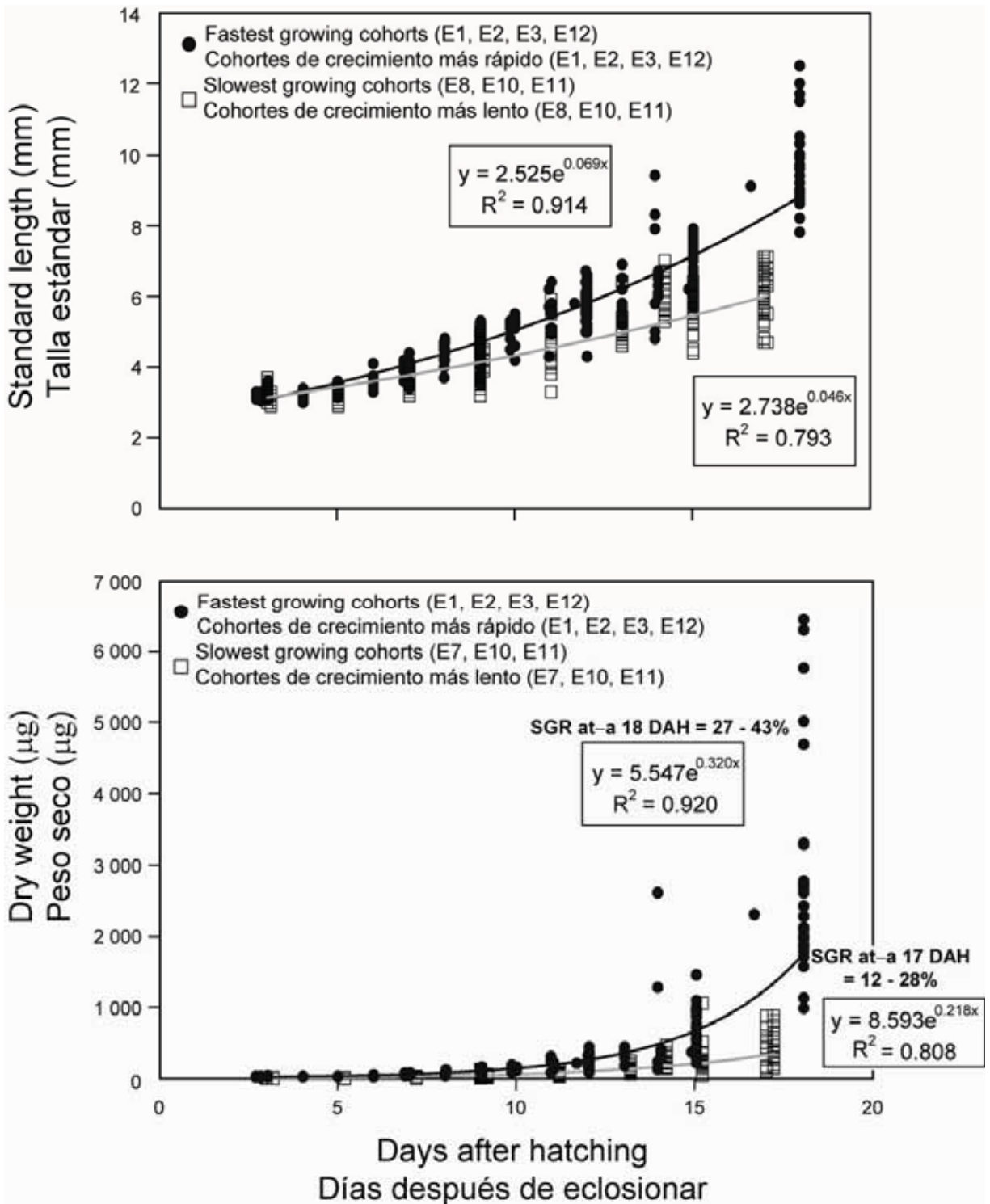


FIGURE 10. Growth in length (top panel) and dry weight (bottom panel) of larval yellowfin from 3-20 days after hatching (DAH) in the laboratory. SGR = specific growth rate (% day⁻¹).

FIGURA 10. Crecimiento en talla (panel superior) y peso seco (panel inferior) de atunes aleta amarilla larvales entre 3 y 20 días después de eclosionar (DAH) en el laboratorio. SGR = tasa específica de crecimiento (% día⁻¹).

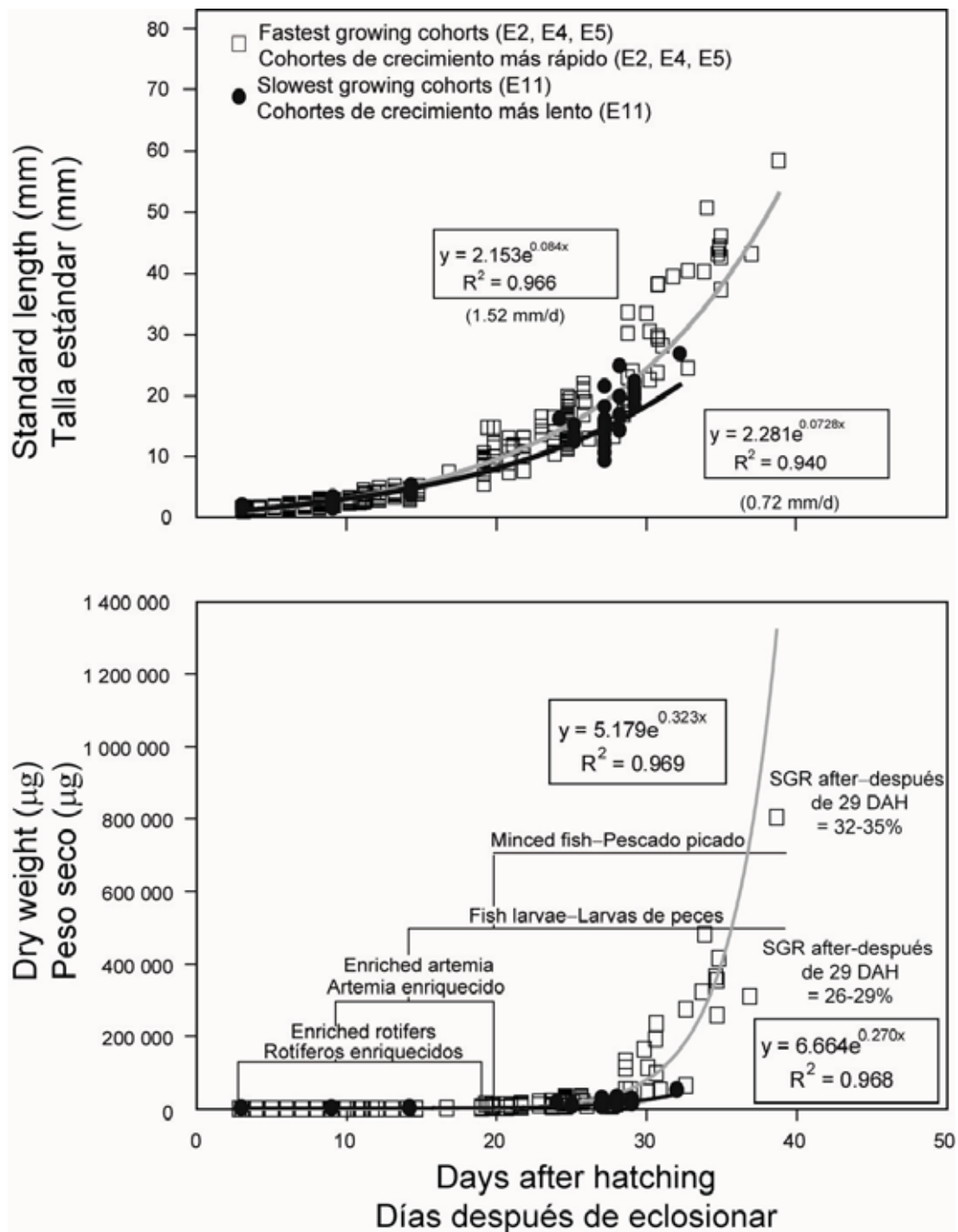


FIGURE 11. Growth in length (top panel) and dry weight (bottom panel) of larval and early-juvenile yellowfin from 3-40 days after hatching (DAH) in the laboratory. SGR = specific growth rate (% day⁻¹). The types of food provided sequentially during development are indicated in the bottom panel.

FIGURA 11. Crecimiento en talla (panel superior) y peso seco (panel inferior) de aleta amarilla larval y juvenil temprano de 3-40 días después de eclosionar (DAH) en el laboratorio. SGR = tasa específica de crecimiento (% día⁻¹). En el panel inferior se señalan los tipos de alimento provistos secuencialmente durante el desarrollo.

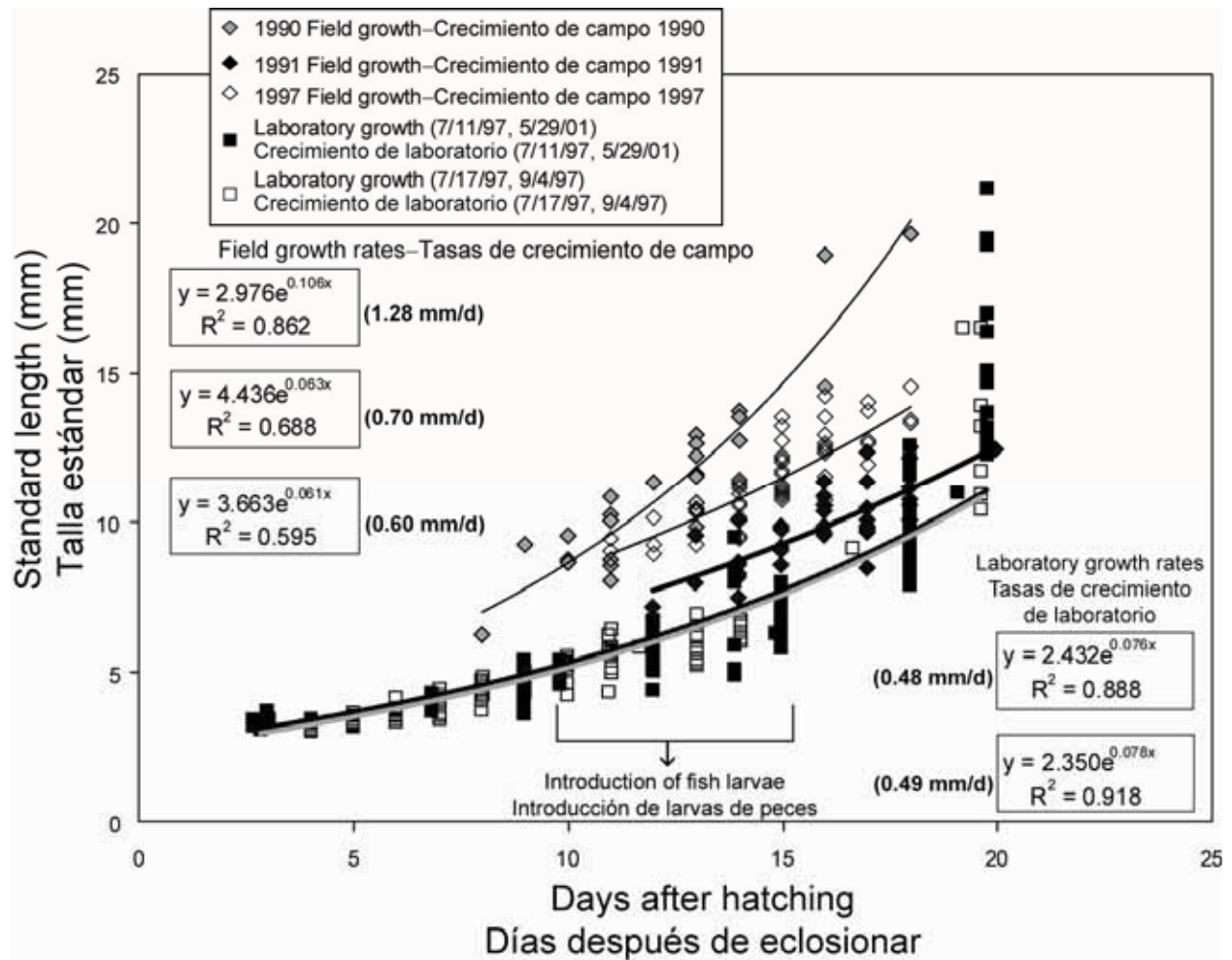


FIGURE 12. Relationship between standard length and age in days estimated from otolith increment counts of larval yellowfin collected during June 1990, September 1991, and August 1997 in the northwestern Panama Bight (after Wexler *et al.* 2007), and for the fastest-growing cohorts of yellowfin larvae raised in the laboratory.

FIGURA 12. Relación entre talla estándar y edad en días estimada a partir de conteos de los incrementos en los otolitos de aletas amarillas larvales capturados durante junio de 1990, septiembre de 1991, y agosto de 1997 en el noroeste del Golfo de Panamá (de Wexler *et al.* 2007), y de las cohortes de larvas de aleta amarilla criados en el laboratorio que crecieron con mayor rapidez.

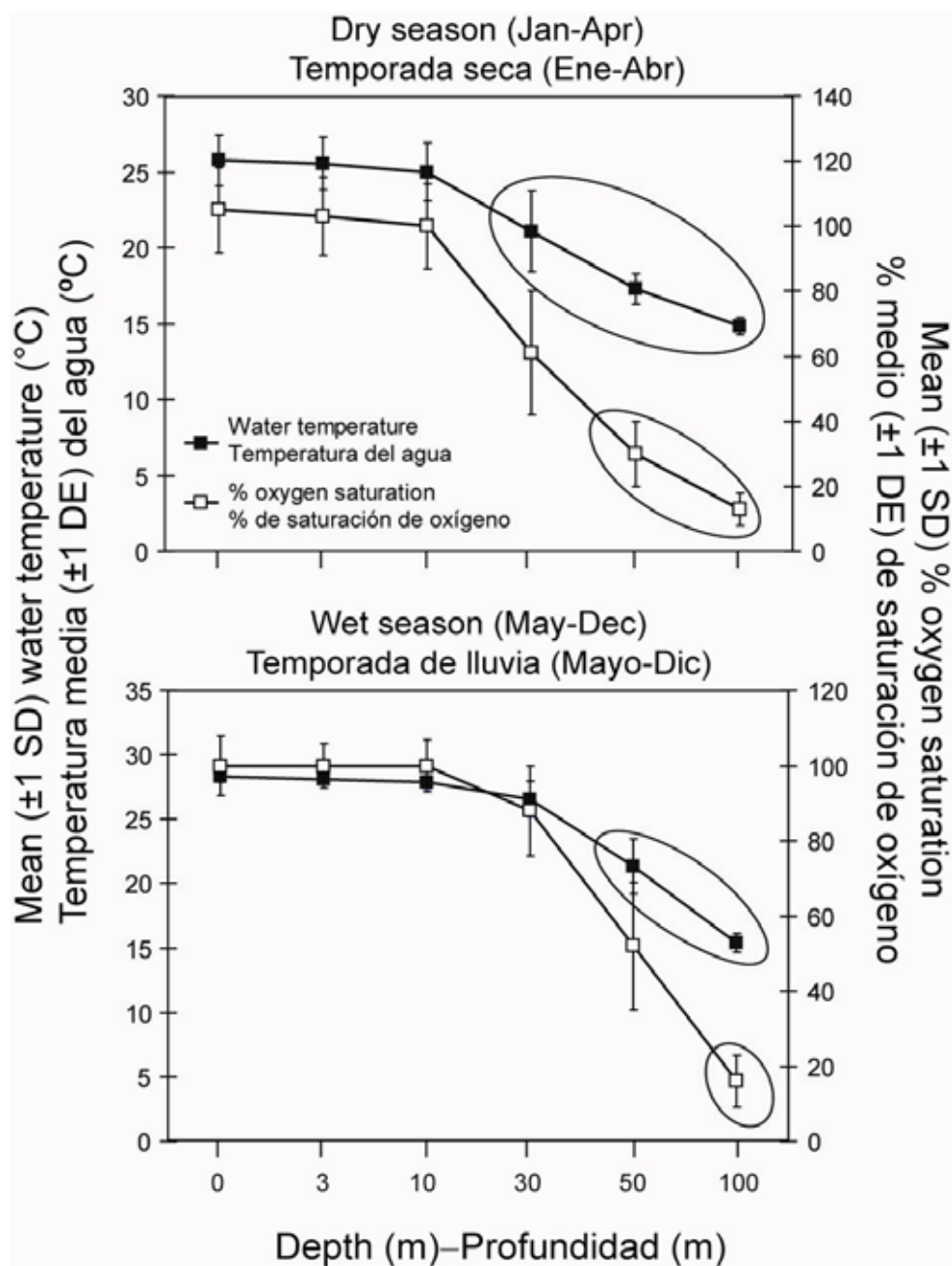


FIGURE 13. Dry season (top panel) and wet season (bottom panel) distributions at 0-100 m depth of water temperature and dissolved oxygen saturation in the northwestern Panama Bight during July 1989 through August 1991 (from data of Owen 1997). Circled values of water temperature and dissolved oxygen saturation would be physiologically limiting for yolk-sac and first feeding yellowfin larvae based on laboratory trials.

FIGURA 13. Distribución en la temporada seca (panel superior) y temporada de lluvias (panel inferior) a 0-100 m de profundidad de la temperatura del agua y la saturación de oxígeno disuelto en el noroeste del Golfo de Panamá entre julio de 1989 y agosto de 1991 (de datos de Owen 1997). Los valores de temperatura del agua y saturación de oxígeno disuelto encerrados en los círculos serían fisiológicamente limitantes para las larvas de aleta amarilla en etapas de saco vitelino y primera alimentación, con base en pruebas de laboratorio.

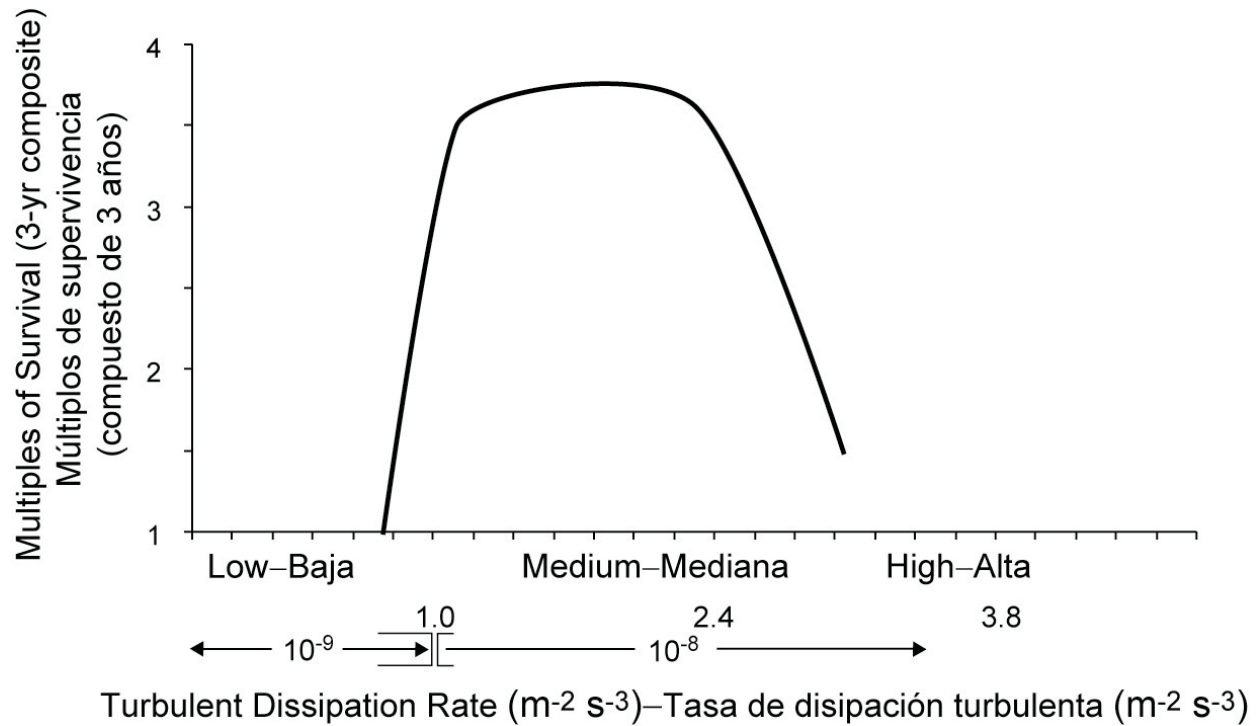


FIGURE 14. The relationship between microturbulence (estimated as the turbulent dissipation rate) and survival of yellowfin larvae during the first week of feeding in the laboratory. The survival curve is a smoothed, composite curve representing the mean survival estimated during 4 trials over 3 years.

FIGURA 14. Relación entre microturbulencia (estimada como tasa de disipación turbulenta) y supervivencia de larvas de aleta amarilla durante la primera semana de alimentación en el laboratorio. La curva de supervivencia es una curva compuesta suavizada que representa la supervivencia media estimada durante 4 pruebas en 3 años.

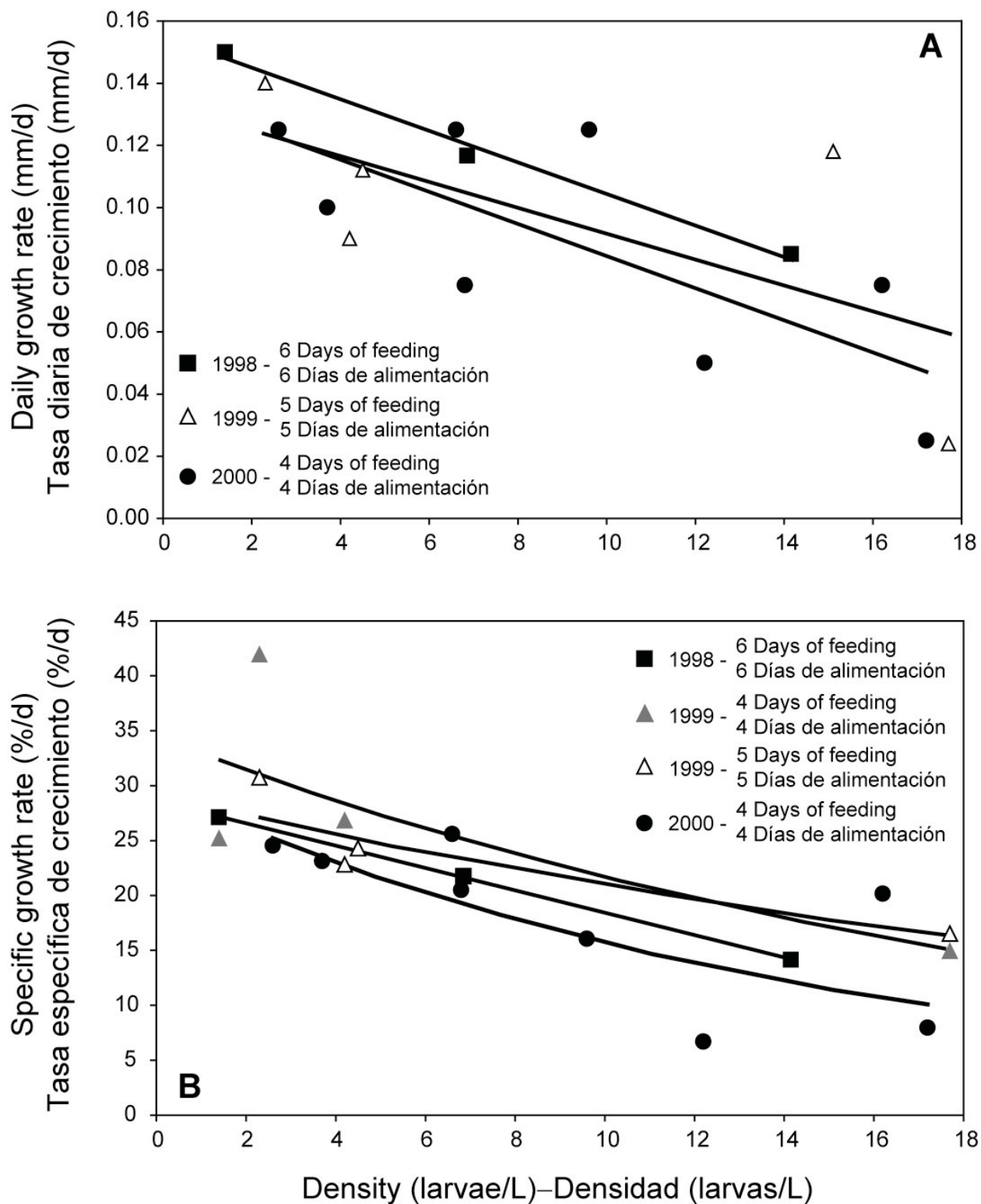


FIGURE 15. Density-dependent growth of yellowfin larvae during the first week of feeding in the laboratory.

FIGURA 15. Crecimiento dependiente de la densidad de larvas de aleta amarilla durante la primera semana de alimentación en el laboratorio.

**RESUMEN DE LAS INVESTIGACIONES DE LA CIAT DEL CICLO VITAL
TEMPRANO Y BIOLOGÍA REPRODUCTORA DE LOS ESCÓMBRIDOS
REALIZADAS EN EL LABORATORIO DE ACHOTINES ENTRE 1985 Y 2005**

por

**Daniel Margulies, Vernon P. Scholey, Jeanne B. Wexler, Robert J. Olson, Jenny M. Suter,
y Sharon L. Hunt**

1.	Introducción	39
2.	Investigación del ciclo vital temprano de los atunes	40
3.	El Laboratorio de Achotines y el programa de la CIAT del ciclo vital temprano.....	40
4.	Investigación de los escómbridos tropicales costeros	41
4.1	Las primeras instalaciones y sistemas experimentales	41
4.2	Elaboración de métodos de colección de larvas y juveniles en el mar	42
4.3	Estudios del crecimiento de larvas y juveniles	42
4.4	Estudios de la nutrición y fisiología de larvas y juveniles	43
4.5	Estudios de campo de la distribución y abundancia de larvas	44
4.6	Resultados clave de la investigación del ciclo vital tempranote los escómbridos costeros	45
4.7	Recomendaciones para la investigación futura del ciclo vital temprano de los escómbridos costeros	46
5.	Investigación de atún aleta amarilla	46
5.1	Antecedentes del desarrollo de la investigación del aleta amarilla en el Laboratorio de Achotines	46
5.2	El acuerdo sobre el proyecto conjunto CIAT-OFCF-Panamá	47
5.3	Construcción de instalaciones nuevas y ampliadas en el Laboratorio de Achotines para la investigación de aleta amarilla	47
5.4	Desarrollo y crecimiento de los aletas amarillas adultos in cautiverio	48
5.5	Genética de los aletas amarillos adultos en cautiverio	49
5.6	Dinámica de desove del aleta amarilla en cautiverio	49
5.7	Otros estudios del comportamiento o fisiología del aleta amarilla adulto en cautiverio	50
5.7.1	Experimentos con rejillas clasificadoras.....	50
5.7.2	Experimentos con marcas archivadores.....	51
5.8	Desarrollo de la visión en el atún aleta amarilla	51
5.9	Crecimiento del aleta amarilla larval y juvenil en el laboratorio e <i>in situ</i>	52
5.10	Estudios de laboratorio de los efectos de factores físicos y densidad larval sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas de aleta amarilla	53
5.11	Estudios de la alimentación de larvas y juveniles de aleta amarilla en el laboratorio	55
5.12	Resultados de investigación clave de los estudios de atún aleta amarilla.....	55
5.13	Recomendaciones para investigaciones futuras.....	58
	Figuras.....	23
	Literatura citada	61

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace casi un siglo, los científicos pesqueros han estudiado las poblaciones de peces marinos en un intento por entender cómo se determina la abundancia de las mismas. Durante la vida temprana de los peces marinos, la supervivencia es variable, y el número de individuos que sobrevive hasta las etapas transicionales o el reclutamiento es difícil de predecir.

Las etapas de huevo, larval, y juvenil de los peces marinos son caracterizadas por tasas altas de mortalidad y crecimiento. La mayoría de los peces marinos, particularmente las especies pelágicas, son muy fecundos, producen huevos y larvas pequeños, y se alimentan y crecen en ecosistemas acuáticos

complejos. La identificación los factores ambientales o biológicos más importantes en el control de la supervivencia durante las etapas tempranas de vida de los peces marinos es una herramienta potencialmente potente en la evaluación de las poblaciones.

Ya que las tasas vitales (mortalidad y crecimiento) durante las etapas tempranas de vida de los peces marinos son altas y variables, cambios pequeños en esas tasas pueden ejercer efectos importantes sobre las propiedades de los supervivientes y el potencial de reclutamiento (Houde 1989). Comprender y predecir los factores que más afectan la supervivencia antes del reclutamiento son objetivos clave de los programas de investigación pesquera.

2. INVESTIGACIÓN DEL CICLO VITAL TEMPRANO DE LOS ATUNES

Aunque décadas de investigación han producido información considerable sobre las poblaciones de atunes adultos, se sabe relativamente poco acerca de las etapas del ciclo vital temprano y los factores que afectan la supervivencia antes del reclutamiento. Los atunes constituyen una de las poblaciones de peces marinos de mayor valor comercial del mundo (FAO 2004), y la variabilidad del reclutamiento es uno de los factores más importantes que afectan las fluctuaciones de las poblaciones (CIAT 2004).

Las poblaciones de atunes son caracterizadas por fluctuaciones de orden de magnitud del reclutamiento, pero los conocimientos de los mecanismos subyacentes que controlan la variabilidad del reclutamiento siguen pobres. Por ejemplo, el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) es reclutado a la pesquería de superficie en el Océano Pacífico oriental (OPO) a una talla de 30 cm y una edad de 6 meses, aproximadamente (Maunder y Harley 2005). El reclutamiento del aleta amarilla en el OPO ha fluctuado por un factor de tres durante los últimos 30 años (Maunder y Harley 2005). El aleta amarilla es muy fecundo (fecundidad por camada > 1.000,000 ovocitos por hembra) y desova casi a diario durante sus períodos reproductivamente activos (Schaefer 2001). Las etapas tempranas de vida de la especie son caracterizadas por tasas de mortalidad y metabólicas elevadas y crecimiento exponencial (Margulies *et al.* 2001, Wexler *et al.* 2001). Este patrón de reproducción y ciclo vital temprano tiene un potencial fuerte para la regulación del reclutamiento durante las etapas larval o juvenil temprana, cuando el número inicial en una cohorte es grande y las tasas vitales (mortalidad y crecimiento) son altas (Houde 1987, Margulies *et al.* 2001). La mayoría de los atunes muestran patrones similares de potencial de reproducción elevado y etapas de vida antes del reclutamiento caracterizadas por crecimiento rápido y mortalidad elevada (Davis *et al.* 1991, Tanaka *et al.* 1996, Margulies *et al.* 2001).

Antes de los años 1980, habían sido emprendidos pocos estudios para examinar los mecanismos que controlan la supervivencia de los atunes antes del reclutamiento o para estimar sus tasas vitales durante las etapas tempranas de la vida. Estas consideraciones llevaron al establecimiento por la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT) de un laboratorio de investigación en la Bahía de Achotines en la República de Panamá, con el propósito de estudiar el ciclo vital temprano de los atunes y especies afines (escómbridos).

3. EL LABORATORIO DE ACHOTINES Y EL PROGRAMA DE LA CIAT DEL CICLO VITAL TEMPRANO

La Bahía de Achotines está situada en la punta sur de la Península de Azuero en la Provincia de Los Santos, República de Panamá (Figura 1), en la porción noroeste del Golfo de Panamá. La plataforma continental es bastante estrecha en este lugar: el contorno de 200 metros se encuentra a entre solamente 6 y 10 km del litoral. Esto brinda a los científicos del laboratorio acceso fácil a aguas oceánicas donde ocurre desove de atunes en cada mes del año. La temperatura superficial del mar fluctúa entre 21° y 29°C.

El programa de investigación del ciclo vital temprano abarca estudios de laboratorio y de campo de los escómbridos tropicales ideados para obtener un mayor conocimiento de los procesos de reclutamiento y de los factores que lo afectan. Investigaciones anteriores del reclutamiento de los peces de otros tipos sugieren que factores abióticos, tales como temperatura, luz, patrones de corrientes, y condiciones de

viento, y biológicos, tales como alimentación, crecimiento, y depredación, pueden afectar el reclutamiento (Houde 1997). Ya que la supervivencia de los peces antes del reclutamiento es controlada probablemente por una combinación de estos factores, el programa de investigación de la CIAT toma en cuenta la interacción entre el sistema biológico y el ambiente físico (Lauth y Olson 1996, Owen 1997).

La investigación de los escómbridos tropicales en el Laboratorio de Achotines ha consistido de dos fases distintas. La primera fue dirigida predominantemente a los escómbridos tropicales costeros, principalmente el barrilete negro (*Euthynnus lineatus*), las melvas (*Auxis* spp.), carite (*Scomberomorus carite*), y el bonito listado (*Sarda orientalis*), durante el período de 1984 a 1995. Desde 1996, el enfoque de la investigación cambió a la biología reproductora y el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla, utilizando huevos puestos por aletas amarillas reproductores cautivos.

En el presente informe, se resumen las investigaciones realizadas en el Laboratorio de Achotines desde su inauguración en 1984. Se resumen asimismo los resultados más importantes de la investigación, y se presentan recomendaciones para investigaciones futuras sobre el ciclo vital temprano y la biología de los atunes tropicales.

4. INVESTIGACIÓN DE LOS ESCÓMBRIDOS TROPICALES COSTEROS

4.1. Las primeras instalaciones y sistemas experimentales

El sitio del Laboratorio de Achotines fue seleccionado en una zona bastante remota en la costa sur de la Península de Azuero en la República de Panamá (Figura 1). La zona es usada predominantemente para la agricultura. La situación remota ha presentado retos especiales para la organización y gestión del programa de investigación realizado en el Laboratorio (Scholey 1997).

Después de esfuerzos considerables de exploración por los Dres. James Joseph, George Schumann y Robert Olson, la CIAT compró el terreno del Laboratorio de Achotines en 1982. Bajo la supervisión del Dr. Schumann y el Sr. James Ianelli, y con el apoyo del Sr. Bruce Chatwin y personal local, fueron construidos cinco edificios pequeños en 1984 y 1985: un laboratorio, un bloque de tres apartamentos, una cocina y comedor para el personal, una caseta para el generador, y un taller/almacén. Durante este mismo período se construyeron cinco estanques de tierra para el cultivo de peces pequeños para alimentar a los atunes juveniles cautivos, y se instalaron una pequeña bomba y los tubos asociados para suministrar agua de mar, durante marea alta, a los estanques y laboratorio. Hasta fines de 1985 hubo instalaciones limitadas para mantener en cautiverio escómbridos capturados de noche con luz artificial, usando *Artemia* y zooplankton capturado en el mar como alimento. El trabajo de oficina y analítico fue llevado a cabo en la zona residencial.

En 1986 se instaló un sistema de bombeo de agua de mar más grande, capaz de suministrar hasta $15 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ de agua de mar filtrada durante todos los ciclos de la marea, y el edificio del laboratorio fue reconstruido para incluir áreas de cultivo, oficinas, y lugar para un laboratorio analítico. En 1987 se añadió un segundo bloque de apartamentos, tanques para almacenar combustible, un tanque de reserva de agua de mar, y un sistema de recirculación de agua para el laboratorio.

En 1988 se instalaron 12 tanques idénticos de fibra de vidrio, de 330 L de volumen, lo cual permitió realizar experimentos sobre factores que afectan el crecimiento y supervivencia de los escómbridos larvales y juveniles. En 1989 se añadió la capacidad de controlar la temperatura del agua en estos tanques. En 1990 se instaló un tanque de cultivo de mayor tamaño (6,4 m de diámetro, 38 m^3 de volumen). En 1991 cinco barriletes negros capturados en el mar en etapa larval/juvenil temprana alcanzaron la madurez sexual al cabo de aproximadamente un año en cautiverio en este tanque. Creemos que esta fue la primera vez que un atún fue criado de la etapa larval/juvenil temprana a adulto maduro en cautiverio.

En 1992, ese mismo tanque fue dotado con mejor filtración de agua, sistemas de esterilización ultravioleta, y desagües diseñados para atrapar huevos recién puestos, y fue usado para mantener

barriletes negros adultos capturados en el mar y trasladados al laboratorio. Estos barriletes negros reproductores comenzaron a desovar en 1993, y desovaron a diario, excepto durante un período de dos meses y medio en 1994 (CIAT 1995). Durante 1994 se tomaron huevos de barrilete negro fertilizados, y las larvas resultantes sobrevivieron hasta ocho días. Se realizaron experimentos adicionales con huevos y larvas de barrilete negro para medir las tasas de desarrollo, edad, crecimiento, y selectividad de alimento de las larvas.

4.2. Elaboración de métodos de colección de larvas y juveniles en el mar

Cuando se iniciaron estos estudios de escómbridos costeros en el Golfo de Panamá, rara vez habían sido capturados atunes juveniles tempranos para estudios científicos. Se elaboraron métodos para la captura de grandes números de escómbridos juveniles tempranos vivos en el mar (Figura 1). Los peces fueron capturados con salabardo después de ser atraídos a una luz submarina (24 V DC, 300 W) y transportados vivos a los tanques en el laboratorio, donde fueron alimentados con zooplancton silvestre clasificado por tamaño entre 333 y 1000 μm de ancho de cuerpo, predominantemente cladoceros y copépodos en etapas juvenil y adulta. La colección y mantenimiento de escómbridos en el laboratorio formó la base para numerosos experimentos que examinaron el crecimiento, nutrición, y desarrollo de larvas y juveniles tempranos.

4.3. Estudios del crecimiento de larvas y juveniles

Ya que cambios pequeños en las tasas de crecimiento y mortalidad pueden ejercer impactos importantes sobre la variabilidad del reclutamiento (Houde 1989), se dirigió una gran parte de la investigación hacia la caracterización del crecimiento durante las etapas tempranas de vida de varias especies de atunes. Se examinaron varios factores fisiológicos y biológicos que podrían potencialmente afectar la supervivencia y crecimiento, usando aplicaciones de laboratorio y de campo.

Antes de estos estudios, los incrementos diarios en los otolitos no habían sido validados para las larvas de la mayoría de los escómbridos, y no habían sido estimadas tasas de crecimiento *in situ* para las larvas y juveniles tempranos de escómbridos del Océano Pacífico. Entre 1986 y 1993 se capturaron escómbridos larvales en aguas de altura (Figura 1) para estudios del crecimiento *in situ* y en el laboratorio. Se validaron los incrementos diarios en los otolitos del barrilete negro larval y juvenil temprano (Wexler 1993) y las melvas (IATTC-CIAT 1993: 238-240) para estimar la edad y las tasas de crecimiento *in situ* a partir de datos de talla por edad.

Los primeros estudios caracterizaron el crecimiento y examinaron la variación temporal en las tasas de crecimiento *in situ* del barrilete negro (Wexler 1993) hasta los 23 días de edad. En el noroeste del Golfo de Panamá hay dos estaciones principales, la temporada de lluvias y de afloramiento reducido, generalmente de mayo a diciembre, y la temporada seca de afloramiento, generalmente de enero a abril. Aunque no son significativamente diferentes, la tasa de crecimiento de las larvas de barrilete negro durante la temporada de lluvias fue mayor ($0,90 \text{ mm d}^{-1}$) y más variable que durante la temporada seca ($0,70 \text{ mm d}^{-1}$). La temporada seca es caracterizada por una productividad más alta y temperaturas superficiales del mar más bajas. A pesar de niveles de zooplancton más bajos durante la temporada de lluvias, las larvas de entre 8 y 14 días de edad parecen ser capaces de alimentarse bien aun cuando la distribución de organismos de presa es irregular (Owen 1989). Las temperaturas mayores del agua durante este período podrían asimismo explicar las tasas de crecimiento mayores pero variables (Scholey 1993). Se estimó una tasa de crecimiento general de $0,70 \text{ mm d}^{-1}$ para las larvas y los juveniles de etapa temprana de entre 6 y 23 días de edad que fueron capturados durante las dos temporadas entre 1987 y 1989 (Wexler 1993). Esta tasa de crecimiento es ligeramente menor de lo que se esperaría para esta especie, dado su crecimiento potencial en cautiverio de aproximadamente $1,0$ a $4,8 \text{ mm d}^{-1}$ (Clemens 1956, Olson y Scholey 1990). Se cree que el crecimiento más lento del barrilete negro *in situ* con que en cautiverio está asociado con la distribución irregular de la presa, la menor disponibilidad de alimento, y los altos niveles de actividad y energía necesarios para evitar la depredación y buscar organismos de presa en el mar. Los experimentos de crecimiento en el laboratorio con barriletes negros larvales (criados de

huevo eclosionados) y juveniles (capturados en el mar) han indicado que el crecimiento de las larvas en primera alimentación es lento ($< 0,2 \text{ mm día}^{-1}$) en comparación con aquél de las larvas tardías y los juveniles tempranos ($1,0\text{-}2,5 \text{ mm día}^{-1}$) (Scholey 1993, IATTC-CIAT 1995: 221-222). Los resultados de estos experimentos brindan ciertas indicaciones que el crecimiento de las larvas de barrilete negro podría ser más limitada por la temperatura durante la temporada seca (enero-abril) y por el alimento durante la temporada de lluvias (mayo-diciembre).

Durante 1990, se examinó también el crecimiento en el laboratorio melvas larvales tardías y juveniles tempranas en niveles de presa zooplanctónica de bajos a moderados. Se realizaron también estudios validación de los incrementos diarios de crecimiento (IATTC-CIAT 1993: 238-240), y se pudo validar los incrementos diarios en los otolitos en el rango de 14 a 51 mm de talla estándar (TE). Durante un período de 8 días en el laboratorio, las tasas de crecimiento fueron muy elevadas, $3,41 \text{ mm d}^{-1}$ en talla y aproximadamente 22 mg d^{-1} en peso seco.

4.4. Estudios de la nutrición y fisiología de larvas y juveniles

Entre 1988 y 1995, se realizaron varios estudios para examinar la nutrición y fisiología de los escómbridos costeros en el Golfo de Panamá. Existía entonces apenas información publicada sobre la nutrición o fisiología de las etapas tempranas de vida de los atunes. Estos estudios se centraron en investigaciones del potencial de inanición en las larvas y juveniles tempranos de los atunes tropicales. Se describió también el desarrollo de la visión en los escómbridos larvales y juveniles tempranos. Se realizaron investigaciones adicionales para describir el desarrollo de la endotermia (la capacidad de elevar la temperatura muscular a un nivel significativamente mayor que la temperatura del agua) en los atunes jóvenes.

En 1988, no existían estimaciones del potencial de inanición de las larvas de peces tropicales. Se examinó la condición nutricional y las tasas de inanición *in situ* de larvas y juveniles tempranos de barrilete negro, melvas, y carite durante la temporada de lluvias de 1988 en un intento de obtener estimaciones de la incidencia de inanición en las larvas de los atunes tropicales. Larvas y juveniles tempranos capturados en el mar fueron sometidos a un examen histológico para determinar su condición nutricional y tasas de desnutrición *in situ* (Margulies 1993). Se elaboraron los criterios histológicos para la condición nutricional mediante experimentos de calibración en el laboratorio. Se estimó el punto nutricional sin retorno de las larvas en preflexión (sin flexión del notocordio) en 1 a 2 días máximo, mientras que las larvas en posflexión y los juveniles tempranos de barrilete negro mostraron un punto nutricional sin retorno de entre 2 y 3 días. La incidencia de inanición en las larvas silvestres en preflexión fue alta, entre $62 \text{ y } 63\% \text{ día}^{-1}$ en el caso del barrilete negro y las melvas, mientras que el porcentaje de larvas que murió de inanición fue estimado en $41 \text{ a } 43\% \text{ día}^{-1}$ (Figura 2). Por contraste, menos del 13% de las larvas tardías y juveniles tempranos de barrilete negro mostraron siquiera estrés nutricional leve. Margulies (1993) concluyó que las larvas de escómbrido en preflexión pueden padecer pérdidas importantes debidas a la inanición, mientras que la capacidad de alimentación de las larvas en posflexión y los juveniles tempranos parece mejorar rápidamente, y son mucho menos vulnerables a la inanición. Estos resultados fueron las primeras estimaciones publicadas de las tasas de inanición en las larvas y juveniles tempranos marinos tropicales.

Estudios de la base morfológica de los patrones de alimentación y capacidad sensorial de los peces jóvenes conducen a mejores conocimientos del comportamiento y de los patrones de distribución durante las etapas de la vida antes del reclutamiento. Cuando se iniciaron estos estudios de escómbridos larvales y juveniles tempranos, no se sabía casi nada del desarrollo de la visión o de la base morfológica de la alimentación durante el ciclo vital temprano de los escómbridos. Usando muestras conservadas originalmente para el estudio de inanición *in situ*, se realizó un examen histológico de larvas y juveniles tempranos de barrilete negro, melvas, y carite para describir el desarrollo del sistema visual. Los resultados, publicados por Margulies (1997), indicaron que el desarrollo del sistema visual en los escómbridos larvales es avanzado, y es probable que esté relacionado con los avances rápidos de la

capacidad de búsqueda de alimento y la piscivoría. Las larvas de barrilete negro, melvas, y carite muestran un desarrollo visual ligeramente más avanzado que las larvas de otros peces marinos. La agudeza visual y el reclutamiento de bastones en la retina son avanzados en los escómbridos larvales, y, combinados con el desarrollo temprano del centro visual en el cerebro, contribuyen probablemente al desarrollo rápido de la capacidad de búsqueda de alimento y la piscivoría durante las etapas larval tardía y juvenil temprana.

Entre 1988 y 1995, la Dra. Kathryn Dickson, de la Universidad Estatal de California en Fullerton, y varios estudiantes de posgrado realizaron varios estudios en el Laboratorio de Achetines para examinar el desarrollo de la endotermia en el barrilete negro. Estos estudios fueron diseñados para estimar el tamaño mínimo al cual el barrilete negro puede elevar la temperatura muscular. Estudios previos habían confirmado la endotermia en los atunes, pero fueron realizados solamente con peces de más de 1 kg de peso. La Dra. Dickson estimó que barriletes negros de solamente 207 mm de talla furcal talla (TF) pueden elevar la temperatura muscular de forma significativa (Dickson 1994). Examinó también la ortogenia de la endotermia en tallas mayores y menores que la talla estimada de capacidad endotérmica (207 mm TF) (Dickson *et al.* 2000). Descubrió indicios de sistemas de intercambio de calor (redes) en individuos de 96 mm de TF. Estos resultados, las primeras estimaciones publicadas de la capacidad endotérmica de atunes pequeños, tenían aplicaciones importantes para los conocimientos de la capacidad termoreguladora y distribución de los atunes jóvenes en el océano.

4.5. Estudios de campo de la distribución y abundancia de larvas

Antes de la década de 1980, se sabía poco acerca de la distribución y abundancia de las larvas de escómbridos en relación con la variabilidad estacional o anual en el ambiente físico. En 1989, se inició una serie de estudios de campo en el noroeste del Golfo de Panamá diseñada para investigar los patrones de distribución espacial y temporal de los escómbridos larvales en relación con las condiciones locales oceanográficas y de producción secundaria de la región. Se realizó un muestreo repetitivo a escala espacial pequeña durante varios años, desde un barco tipo *Boston Whaler* de 7,6 m, dotado de un mástil, tangón, y cabrestante hidráulico. En cada estación de muestreo se realizaron arrastres de ictioplancton y lances de CTPO (conductividad, temperatura, profundidad, y oxígeno).

Durante 1989-1990, se usaron redes de bongo (con malla de 335 μm) para tomar muestras de peces larvales al mismo tiempo que los lances de CTPO. Se realizó el muestreo en 14 estaciones a lo largo de 3 transectos que se extendían hacia el sur desde la Península de Azuero (Figura 1) durante las dos estaciones dominantes de la región, la temporada seca (enero-abril) y la temporada de lluvias (mayo-diciembre). Los resultados del estudio fueron resumidos por Lauth y Olson (1996); informaron que la abundancia de las larvas de barrilete negro, melvas, carite, y bonito listado (*Sarda orientalis*) fue máxima durante la temporada seca. El afloramiento estuvo también asociado con una producción secundaria mayor en el área del estudio (Figura 3). El barrilete negro y las melvas parecen desovar durante todo el año en el área del estudio, y el Golfo de Panamá parece ser un área de desove importante para estas especies. Las larvas de *Thunnus* spp. (aleta amarilla y/o patudo) fueron infrecuentes en las colecciones, y parece que desovan en aguas más lejanas de la costa (al sur y/o oeste del área del estudio). La temporada de lluvias fue caracterizada por picos episódicos de menor amplitud en la producción secundaria y la abundancia de escómbridos larvales.

Entre 1990 y 1993, se cambiaron los protocolos de muestreo para enfocar en los patrones de distribución vertical y diaria de los escómbridos larvales en una sola estación de muestreo (MSB, la isóбата de 200 m mar afuera de Punta Mala)(Figura 1). Se realizaron muestreos de ictioplancton, usando una red de arrastre tipo Tucker, capaz de ser abierta y cerrada, para capturar larvas de escómbridos en profundidades definidas en los primeros 100 m de la columna de agua. Se realizó un muestreo de CTPO simultáneo. Durante el primer año de este muestreo, se fijaron las muestras de ictioplancton en formol para análisis del contenido del intestino y de la distribución de tallas. En 1992 y 1993, las muestras en la red fueron divididas en el mar, el 50% de cada muestra fijada para análisis de edad, crecimiento, y dieta, y el 50%

para un análisis histológico de la condición nutricional de las larvas. Las presas microzooplanctónicas fueron muestreadas simultáneamente con una red de malla fina (70 μm) insertada para examinar la dinámica de los peces larvales y sus presas. Los análisis de las muestras obtenidas con la red de Tucker han sido aplazadas hasta ahora; una vez completados, los datos proveerán información sobre la distribución vertical y diaria, las tasas de crecimiento e inanición *in situ*, y los patrones de dieta de los escómbridos larvales.

4.6. Resultados clave de la investigación del ciclo vital temprano de los escómbridos costeros

Los estudios del ciclo vital temprano y la biología reproductora de los escómbridos tropicales costeros durante la primera década de operación del Laboratorio de Achotines resultaron en nuevos e importantes descubrimientos acerca de la biología de los escómbridos tropicales. Los resultados más importantes fueron los siguientes:

1. Describimos, por primera vez, la dinámica de crecimiento de los escómbridos tropicales larvales y juveniles en el Océano Pacífico, y se aprendió que el barrilete negro larval tardío se alimenta competentemente y es capaz de un crecimiento rápido aun durante la temporada de lluvias, cuando la producción secundaria es más baja. Se aprendió que el barrilete negro, melvas, y carite juveniles son capaces de un crecimiento extremadamente rápido en el laboratorio (1-5 mm día⁻¹) y poseen un gran potencial de crecimiento.
2. Desarrollamos métodos para la colección y cría de escómbridos larvales tardíos y juveniles tempranos. Estos probaron ser de enorme valor al realizar experimentos de laboratorio para examinar la dinámica de crecimiento, nutrición, y fisiología de los escómbridos tropicales.
3. Durante 1991, se completó el ciclo vital del barrilete negro en cautiverio al criar larvas capturadas en el mar hasta la madurez reproductora durante un período de un año. Esta fue la primera vez que una especie de atún fue criada desde la etapa larval hasta un tamaño de reproducción. En 1993 se desarrolló, asimismo por primera vez, una población reproductora cautiva de barrilete negro.
4. Elaboramos las primeras estimaciones de la incidencia de inanición en los escómbridos larvales y juveniles en aguas tropicales. Las larvas en etapa de primera alimentación de barrilete negro, melvas, y carite mostraron un alto potencial de inanición durante la temporada de lluvias en el Golfo de Panamá. Se concluyó que la mortalidad por inanición de las larvas de atún en primera alimentación por sí sola fue casi 45% día⁻¹. Los juveniles tempranos, en cambio, mostraron una incidencia muy baja de desnutrición.
5. Se obtuvieron conocimientos importantes de la distribución temporal y espacial de los escómbridos larvales en el Golfo de Panamá. Un estudio de larvas en el mar, combinado con un muestreo oceanográfico durante 1989-1990, descubrió abundancias elevadas de larvas de barrilete negro, melvas, y carite durante la temporada seca (enero-abril). Las abundancias incrementadas de las larvas coincidieron con los períodos de producción secundaria máxima. Parece que el barrilete negro y las melvas desovan durante todo el año en el área del estudio, y el Golfo de Panamá parece ser una zona de desove importante para estas especies. Las larvas de aleta amarilla y/o patudo (*Thunnus* spp.) fueron infrecuentes en las colecciones, y parece que desovan en aguas más lejanas de la costa (al sur y/o oeste del área del estudio). Descripciones de la distribución diaria y vertical, el crecimiento, las tasas de inanición, y la dieta de las larvas, basadas en los estudios con red de Tucker durante 1990-1993, aguardan análisis de las muestras archivadas.
6. Se validaron los incrementos diarios en los otolitos de barriletes negros y melvas larvales y juveniles tempranos para determinar la edad y estimar tasas de crecimiento *in situ* basadas en datos de talla por edad. Antes de estos estudios, los incrementos diarios no habían sido validados en los otolitos de la mayoría de las larvas de escómbridos.
7. Se describió, por primera vez, el desarrollo del sistema visual de los escómbridos larvales y juveniles

tempranos. El sistema visual es avanzado, y contribuye indudablemente a los avances rápidos de la capacidad de búsqueda de alimento y el inicio temprano de la piscivoría. Se apoyaron también los primeros estudios para describir la talla mínima de endotermia en los atunes (Dickson 1994).

8. Los primeros estudios de las especies costeras desde 1984 hasta 1995 contribuyeron nueva información sobre la alimentación, crecimiento, y supervivencia durante las etapas tempranas de vida de los atunes tropicales. Se construyó también sobre estos estudios en la elaboración de un programa de investigación de la biología reproductora y el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla en años subsiguientes.

4.7. Recomendaciones para la investigación futura del ciclo vital temprano de los escómbridos costeros

En el corto plazo, el énfasis de las investigaciones futuras en el Laboratorio de Achotines seguiría en los estudios de la biología adulta y el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla. No obstante, se debería continuar la investigación de los escómbridos tropicales costeros, a fin de complementar y ampliar los conocimientos de la biología de los escómbridos tropicales. Se recomiendan los siguientes temas de estudio para la investigación de los escómbridos costeros:

1. Se podrían establecer nuevas poblaciones reproductoras en el Laboratorio de Achotines. Las especies más adecuados incluyen el barrilete negro, bonito listado, carite, y peto. Ejemplares subadultos de estas especies son comunes en las aguas costeras de la Península de Azuero, y podrían ser capturados y criados hasta el tamaño de reproducción en los tanques existentes en el laboratorio. Se ha publicado poca información sobre la biología reproductora y el ciclo vital temprano del bonito listado, carite, o peto, y el establecimiento de una población de reproductores de estas especies brindaría la oportunidad de estudiar las etapas de vida antes del reclutamiento de estas especies.
2. Se debería completar el análisis de las muestras de los estudios de 1990-1993 con red de Tucker en el Golfo de Panamá. Ha sido aplazado en los últimos años, ya que se han concentrado los esfuerzos de investigación en los estudios del aleta amarilla. Los primeros estudios de las muestras conservadas deberían ser descripciones de la distribución vertical diaria y la dieta de los escómbridos larvales capturados, seguidas por análisis del crecimiento *in situ* y la condición nutricional de las larvas.

5. INVESTIGACIÓN DEL ATÚN ALETA AMARILLA

5.1. Antecedentes del desarrollo de la investigación del aleta amarilla en el Laboratorio de Achotines

En 1990, se entablaron discusiones entre la CIAT y agencias japonesas sobre estudios cooperativos del desove y ciclo vital temprano del atún aleta amarilla, con miras a combinar los conocimientos de investigación de las distintas organizaciones. Desde 1986, científicos de la Japan Sea Farming Association (JASFA) mantenían una población de aletas amarillas reproductores en corrales marinos anclados en la Estación Yaeyama en la Isla Ishigaki (Masuma *et al.* 1993). Durante este mismo período, el grupo de investigación de la CIAT del ciclo vital temprano desarrolló métodos para criar atunes jóvenes en el Laboratorio de Achotines. En 1992, se realizaron experimentos conjuntos en la Estación Yaeyama, apoyados por la Fundación para la Cooperación en Pesca Exterior (OFCE) y la Federación de Asociaciones Cooperativas de Pesca Atunera del Japón, para examinar aspectos de la biología reproductora y el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla. Los experimentos incluyeron estudios de la alimentación, validación de la edad, y crecimiento de las larvas de aleta amarilla (Margulies *et al.* 2001, Wexler *et al.* 2001).

Margulies *et al.* (2001) y Wexler *et al.* (2001) descubrieron que las larvas de aleta amarilla se alimentan de forma selectiva, y muestran una preferencia fuerte para las presas grandes y relativamente escasas, mientras continúan incluyendo presas pequeñas y más abundantes para completar su dieta. Su análisis indicó también un fuerte potencial de la influencia de la turbulencia a microescala sobre el éxito de la

alimentación de las larvas de aleta amarilla. Los resultados arrojaron además nueva información sobre la validación de la edad de las larvas de aleta amarilla. Indicaron que el primer incremento de crecimiento en los otolitos es depositado menos de 12 horas después de la eclosión, 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.

En 1993, los dos grupos de investigación realizaron estudios conjuntos adicionales en la Estación Yaeyama. Estos experimentos examinaron el crecimiento y la selección de alimento de las larvas del atún aleta azul del Pacífico (*Thunnus orientalis*). Los resultados señalaron que éstas también se alimentan de forma selectiva, pero que son menos sensibles a los niveles de presas, son ligeramente más grandes, y que el tamaño de la boca en primera alimentación es relativamente mayor que en las larvas de aleta amarilla (IATTC-CIAT 1995: 225-227).

Con base en el éxito de los estudios conjuntos del aleta amarilla realizados en Japón en 1992 y 1993, y los resultados positivos de la investigación del barrilete negro larval y adulto en el Laboratorio de Achotines, en diciembre de 1993 la CIAT, la OFCF, y el gobierno de la República de Panamá acordaron emprender en el Laboratorio de Achotines un estudio conjunto de mayor alcance, financiado principalmente por la OFCF, del atún aleta amarilla y de pargos y corvinas. El presente informe no abarca los estudios de pargos y corvinas. En las secciones siguientes, se resumen las áreas principales de investigación del aleta amarilla en el Laboratorio de Achotines desde 1996 hasta 2005.

5.2. El acuerdo sobre el proyecto conjunto CIAT-OFCF-Panamá

Con respecto al aleta amarilla, los objetivos del proyecto fueron: (1) criar atunes aleta amarilla adultos para suministrar larvas y juveniles para la investigación del ciclo vital temprano de la especie; y (2) producir organismos de alimento para los atunes larvales y juveniles. En general, el proyecto de aleta amarilla fue diseñado para obtener nuevos conocimientos de la biología reproductora y el ciclo vital temprano de la especie, mediante el mantenimiento de una población reproductora de adultos y el estudio de las etapas de huevo, larval, y juvenil en el laboratorio. El proyecto duró hasta marzo de 2001. Desde marzo de 1994 hasta marzo de 2000, el Sr. Akio Nakazawa fue el homólogo de la OFCF en residencia en el Laboratorio de Achotines, donde trabajó conjuntamente con el grupo de la CIAT de investigación del ciclo vital temprano. Le sucedió el Sr. Yukiyasu Niwa, desde marzo de 2000 hasta marzo de 2001. Desde entonces, el grupo de la CIAT ha continuado el programa de investigación de aleta amarilla.

5.3. Construcción de instalaciones nuevas y ampliadas en el Laboratorio de Achotines para la investigación del aleta amarilla

Fue necesario ampliar y mejorar la infraestructura del Laboratorio de Achotines para poder llevar a cabo los objetivos del proyecto conjunto de aleta amarilla. En 1994 se inició una ampliación importante del Laboratorio, financiada principalmente por la OFCF.

Para criar los aletas amarillas reproductores, se construyeron, entre fines de 1994 y principios de 1996, nuevos tanques de reproductores y de cría y un nuevo sistema de agua de mar, y siguieron obras menores hasta 1999 (Wexler *et al.* 2003). Los tanques de reproductores y de cría estuvieron en operación a principios de 1996.

La toma de agua de mar fue situada justo afuera de la entrada de la Bahía de Achotines, a una profundidad de 16 m. El agua pasa por dos tubos de PVC a un edificio en la playa (Figura 4), que contiene dos bombas de fibra de vidrio, cada una capaz de levantar $45 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ a un filtro lento de arena, situado 16 m más arriba de las bombas. Se usaron una o ambas bombas, según la demanda de agua. Desde el filtro, que retiene partículas de más de unos $50 \mu\text{m}$, el agua fluye por gravedad a un depósito de 60 m^3 , por filtros de cartucho adicionales y esterilizadores ultravioleta (UV), y a los tanques de reproductores.

Los tres tanques de reproductores y tres tanques de cría (Tabla 1) fueron situados en un edificio de 1300

m², con tejado pero sin paredes. Se diseñó el tanque de reproductores principal (Tanque 1) para que fuese lo suficientemente grande como para minimizar el estrés de cautiverio y mejorar la probabilidad del desove. Se colocó malla de red de cerco atunera a lo largo del perímetro del tanque, para evitar que los peces saltaran del mismo, y se instalaron paneles translúcidos en el tejado encima de los Tanques 1 y 2 para exponerlos al fotoperíodo natural.

Se construyó una torre de aeración para torre para oxigenar y quitar los gases del agua recirculada y suplente que entra al Tanque 1, usando dos bombas de fibra de vidrio para subir agua de la superficie del sumidero del tanque a la cima de la torre. El agua baja por la torre, llena de material filtrante, y vuelve por gravedad al tanque por cuatro tubos de salida. Un 10% del agua bombeada a la torre de aeración fue desviada por un fraccionador de espuma para sacar partículas pequeñas y material orgánico disuelto, y luego devuelta a la torre.

Se proporciona biofiltración para el Tanque 1 sacando agua del fondo del sumidero con una bomba de fibra de vidrio que la lleva a un biofiltro lento de arena (Figura 4). El agua filtrada vuelve al sumidero por gravedad y los sólidos son retenidos por el biofiltro y eliminados cada día con retroflujo de agua. Se añade agua al Tanque 1 diariamente para reemplazar del 5 al 20% del agua.

El diseño de los Tanques 2 y 6 fue similar a aquél del Tanque 1, pero a escala reducida (Tabla 1). La diferencia principal es que estos tanques no tienen torre de aeración ni fraccionador, y la aeración es por piedras de aeración. Se usa el Tanque 2 para mantener atunes más pequeños como reproductores de reserva, y el Tanque 6 para varios estudios (ver Sección 5.7). Los Tanques 3, 4, y 5 no cuentan con sistemas de recirculación pero sí con piedras de aeración, y son usados para experimentos preliminares de corta duración, la cría inicial de aleta amarilla, y la cría de otras especies. Se mantienen bombas y sistemas de aeración de reserva para todos los tanques.

Durante este período se mejoraron las instalaciones del laboratorio “mojado” con acuarios experimentales adicionales, dotados de pequeños calentadores y enfriadores para controlar la temperatura del agua, luces para regular el fotoperíodo, y sistemas de aeración. Se construyó también un edificio dedicado al almacenaje y preparación del alimento de los reproductores y la cría de organismos de alimento para las larvas que resultan del desove de los peces reproductores. Se construyó además un edificio con una nueva oficina y un laboratorio “seco”, con más equipo analítico y microscopios. Se compraron dos embarcaciones nuevas tipo panga, de 7,3 y 8,2 m de eslora, con tanques de transporte, para la captura y traslado de los peces, y en 1999 se añadió un muelle de hormigón y una rampa para facilitar las operaciones con las embarcaciones.

5.4. Desarrollo y crecimiento de los aletas amarillas adultos en cautiverio

Una vez terminada la construcción del sistema de agua de mar y los tanques enterrados, se concentraron los esfuerzos en poblar los tanques de reproductores principal (Tanque 1) y de reserva (Tanque 2) con aletas amarillas capturados cerca de las islas de Los Frailes (Figura 1) entre abril y junio de 1996. En promedio, el 50% de los aletas amarillos capturados sobrevivieron la captura y el traslado, y aproximadamente el 30% acabaron como reproductores en el Tanque 1 ó 2. Cada pez fue marcado con una marca de microchip implantada, y luego pesado, medido, e inyectado con oxitetraciclina. Se observó y describió el crecimiento, la supervivencia, y los requisitos de alimentación y energía de los reproductores de 1996 a 1999 (Wexler *et al* 2003). Estos resultados brindaron la primera información a largo plazo sobre el desove de atunes tropicales reproductores en tierra. Una dieta de 50% calamar y 50% pescado, como machuelos (*Opisthonema* spp.) o anchoveta (*Cetengraulis mysticetus*), parece constituir nutrición adecuada para los aletas amarillos reproductores y provoca un desove casi continuo. Un análisis de la composición de proteína, humedad, grasa y ceniza en los organismos de alimento indica que el machuelo contiene el valor calórico máximo (116% mayor que el calamar), mientras que la anchoveta provee 64% más calorías que el calamar. La inclusión de calamar como el 50% de la ración diaria resulta en una dieta más baja en grasa que ayuda a reducir la deposición de grasa en los peces reproductores. Desde 1999, se han repuesto los reproductores periódicamente con peces más jóvenes y pequeños, para

asegurar un desove continuo. Se estimó el crecimiento de los reproductores durante dos períodos, 1996-2001 y 1999-2006 (los períodos coinciden en parte debido a la ocurrencia de peces individuales entre los reproductores durante ambos períodos). Las estimaciones del crecimiento en talla de los peces cautivos (Figura 5) disminuyeron a medida que aumentó la talla de los peces, y variaron de 8 a 48 cm año⁻¹ durante el período de 1996-2001 y de 4 a 65 cm año⁻¹ durante el período de 1999-2006. Se estimó el crecimiento en peso (Figura 6) en 9 a 26 kg año⁻¹ durante el período de 1996-2001 y 1 a 25 kg año⁻¹ durante el período de 1999-2006, y estas estimaciones asimismo disminuyen a medida que aumenta el peso de los peces. Con base en la supervivencia y crecimiento de los reproductores iniciales, se sigue manteniendo los reproductores a largo plazo actuales y futuros en el Tanque 1, con una densidad de población inicial máxima de 0,50 a 0,75 kg m⁻³ después del primer año en cautiverio.

5.5. Genética de los aletas amarillas adultos en cautiverio

Se realizó un seguimiento genético de los aletas amarillos reproductores mediante una comparación de la variación del ADN mitocondrial (mtADN) de las hembras desovadoras con aquella de sus huevos y larvas. Los estudios genéticos fueron realizados con el Sr. Yukiyasu Niwa, de la OFCF, y dirigidos por el Dr. Seinen Chow, del Instituto Nacional de Investigación de Pesquerías de Ultramar (NRIFS) de Japón. Fue posible identificar hembras desovadoras individuales y observar su comportamiento de desove (Niwa *et al.* 2003). Se confirmó además herencia mendeliana de las variaciones del intron genético de la proteína ribosomal (Chow *et al.* 2001) y se contribuyó a un estudio que confirmó la herencia mendeliana de microsatélites (Takagi *et al.* 2003). Las hembras son capaces de desovar a diario durante períodos extendidos, siempre que permanezcan en el rango adecuado de temperatura del agua (>24°C) y tengan suficiente alimento. La variación genética de la región *D-loop* del mtADN del aleta amarilla parece ser tan alta que es probablemente útil no solamente para la identificación de peces individuales, sino también para las investigaciones de la estructura de las poblaciones en el mar.

5.6. Dinámica de desove del aleta amarilla en cautiverio

No ha sido observado en el mar comportamiento de cortejo o agregaciones desovadoras de atunes. Se sabe poco acerca del comportamiento de desove de los atunes o la influencia de los factores físicos sobre el desove o el desarrollo de huevos y larvas. Se han hecho estimaciones de las temporadas e intervalos de desove, la fecundidad, y el costo energético del desove para el aleta amarilla, a partir de análisis histológicos de las gónadas de peces muestreados en el mar (Schaefer 2001). No se sabe casi nada acerca de cómo los atunes se agregan para el desove, su comportamiento de cortejo y desove, la duración de los eventos de desove, o los efectos de variables físicas sobre la dinámica del desove o el desarrollo durante las etapas tempranas. El desarrollo de la población desovadora de atún aleta amarilla en el Laboratorio de Achotines permitió estudiar la dinámica diaria del desove del aleta amarilla durante múltiples años. Desde 1996, se ha observado y descrito el comportamiento de cortejo y desove de los aletas amarillos cautivos, la periodicidad del desove, la influencia de factores físicos y biológicos sobre el desove y la eclosión, y el desarrollo de los huevos y las larvas tempranas. Se resumieron estos aspectos de la dinámica de desove del aleta amarilla durante el período de 1996-2000 (Margulies *et al.* en prensa).

El desove de los aletas amarillos reproductores en el Laboratorio de Achotines, que comenzó en 1996, representa la primera ocasión en todo el mundo de desove sostenido de aleta amarilla en instalaciones terrestres. Durante los cuatro primeros años, el desove fue casi diario durante períodos extendidos, y ocurrió en un rango de temperatura de agua entre 23,3° y 29,7°C (Figura 7). La temperatura del agua pareció ser el factor exógeno principal que controlaba la ocurrencia y la hora del desove. Los eventos de desove fueron precedidos por comportamiento de cortejo entre 1 y 4 horas antes. Los grupos desovadores consistieron de 1 hembra y de 1 a 5 machos, y típicamente desovaron entre 2 y 8 grupos simultáneamente en el tanque. Durante el período de 1996-2000, la hora de desove estuvo fuerte y directamente correlacionada con la temperatura media diaria del agua, y la duración de la etapa de huevo estuvo inversamente correlacionada con la misma, resultando en una banda estrecha para la hora de eclosión, el 95% de la cual tuvo lugar entre las 1500 y 1900 horas (Figura 8). Durante los años subsiguientes (2001-

2005), los reproductores mostraron el mismo patrón de horas de desove y eclosión, excepto durante el período de abril a junio de 2002, cuando cambios rápidos y repetidos en la temperatura del agua en abril resultaron en horas desove atípicas (0100 a 1030). Aparte de estos cambios rápidos y anómalos de temperatura del agua, se cree que este patrón de horario de desove y eclosión en reacción a la temperatura del agua es importante, y posee significado adaptativo para el ciclo vital temprano del aleta amarilla. En la naturaleza, mantener una hora conservadora para la eclosión de los huevos (hacia fines de la tarde o principios del atardecer) aseguraría que las larvas recién eclosionadas pasarían las primeras 12 a 15 horas después de la eclosión en luz tenue o en la oscuridad, minimizando así la mortalidad por depredación y daños por luz ultravioleta. La periodicidad del desove de los reproductores y su capacidad de ajustar la hora del día del desove en reacción a la temperatura del agua sugieren que el aleta amarilla es capaz de integrar con rapidez información sensorial sobre la temperatura del agua y, a menudo en un plazo de horas, ajustar el control hormonal de los procesos finales de maduración y del desove. Se estimó la edad de primer desove en entre 1,3 y 2,8 años, con un promedio ligeramente inferior a los 2,0 años. Durante períodos de tiempo cortos (<1 mes), las hembras desovadoras incrementaron su producción de huevos entre 30 y 234% en reacción a aumentos a corto plazo de la ración diaria de entre 9 y 33%. La producción de huevos alcanzó su pico entre 4 y 21 días (promedio de 12 días) después de aumentar las raciones. La tasa media de eclosión fue 83%. La temperatura del agua estuvo inversa y significativamente relacionada con el tamaño de los huevos, la duración de la etapa de huevo, el tamaño de las larvas en el momento de eclosión, y la duración de la etapa de saco vitelino. Se estimó que el potencial de crecimiento de la etapa de larva temprana a la talla de reclutamiento (30 cm, 6 meses de edad) es muy alto, cercano a 10^6 a 10^7 veces.

5.7. Otros estudios del comportamiento o fisiología del aleta amarilla adulto en cautiverio

Los aletas amarillas adultos cautivos han sido usados también en experimentos sobre el comportamiento y la fisiología. Además de los estudios genéticos y las observaciones del comportamiento de desove, se han realizado experimentos relacionados con el escape de peces pequeños de las redes de cerco y experimentos para evaluar el funcionamiento de las marcas archivadoras.

5.7.1. Experimentos con rejas clasificadoras

Los atunes pequeños sin valor comercial constituyen un componente importante de la captura incidental en la pesquería atunera con red de cerco en el OPO. En la 58ª reunión de la CIAT en junio de 1997, se estableció un grupo de trabajo para examinar la cuestión de capturas incidentales en la pesquería de cerco del OPO. Uno de los objetivos de este grupo de trabajo es “desarrollar tecnologías en materia de artes de pesca eficaces para reducir las capturas incidentales al grado máximo posible.” No se han desarrollado aparejos para reducir la captura incidental para buques atuneros de cerco, pero en el Instituto de Investigación Marina en Bergen (Noruega) se había diseñado y probado una reja clasificadora rígida para reducir las capturas incidentales de caballas y carboneros pequeños por buques cerqueros.

En septiembre de 1998 se llevó a cabo un experimento con aletas amarillas cautivos en el Laboratorio de Achotines para comprobar si sería factible esta técnica en la pesquería atunera de cerco. Se diseñó un experimento para determinar si los aletas amarillas atravesarían una reja clasificadora y estimar las tasas de mortalidad de los peces que lo hiciesen. Este modesto experimento señaló que los aletas amarillas atravesarían una reja, y que su mortalidad posterior no sería excesiva.

En 2005 se realizó una segunda serie de experimentos. Una primera prueba en el mar, a bordo del B/P *Ile Aux Moines* sugirió que la reacción en el comportamiento de los atunes a cualquier reja clasificadora determinaría probablemente la eficacia del aparato. El Dr. Peter Nelson (investigador posdoctoral con la CIAT) trabajó con el personal del Laboratorio de Achotines en un estudio de la reacción de los atunes aleta amarilla a la reja clasificadora.

Se descubrió que tanto la orientación como el color (blanco o negro) ejerció efectos significativos sobre la frecuencia relativa con la cual los atunes eligieron un aparato u otro (Nelson *et al.* en revisión). Se probó

también la importancia de la posición de la reja en el aparejo experimental; este factor resultó ser el más importante de todos. Este último resultado sugiere que el amontonamiento físico de los atunes en la red de cerco podría ser de importancia fundamental en la elaboración de una estrategia para el uso de las rejillas clasificadoras en la pesquería de cerco. Paneles de PVC transparentes con agujeros ovalados resultaron ser un diseño muy superior a un arreglo de aros rígidos cosidos directamente en la malla de la red. En una prueba sencilla de la reacción de los atunes a una cortina de burbujas, se descubrió que los peces pasarían por una barrera de este tipo con renuencia. Este experimento y la prueba de la reja clasificadora sugieren, como mínimo, cómo se podría mejorar la probabilidad de diseñar una clasificadora que funcionase bien, y que las cortinas de burbujas merecen ser probadas en el mar.

5.7.2. Experimentos con marcas archivadoras

Los estudios a largo plazo del aleta amarilla adulto en el Laboratorio de Achotines incluyen una serie de pruebas de marcas archivadoras realizadas por los Sres. Kurt Schaefer y Dan Fuller, el grupo de investigación del ciclo vital temprano, y el personal del Laboratorio de Achotines. Se realizaron estas pruebas para investigar si los eventos de alimentación y desove podrían ser detectados mediante el análisis de los datos de temperatura registrados por marcas archivadoras implantadas en la cavidad peritoneal de los atunes. Además, se evaluó el funcionamiento general de las marcas.

Desde 2001, se han implantado marcas archivadoras en la cavidad del cuerpo de varias docenas de aletas amarillas, de entre 4 y 10 kg, que fueron introducidos en los Tanques 1 ó 2. Alimento congelado fue descongelado a la temperatura ambiental del agua en los tanques antes de alimentar a los peces, y se detectó posteriormente en los datos de varios peces una leve disminución de la temperatura peritoneal en el momento de alimentación, confirmando una señal de alimentación. Se registró una señal de desove en el momento documentado de desove en un macho de 18 kg, y se esperan resultados similares en otros machos y también en las hembras. El uso de marcas archivadoras parece ser muy prometedor como método de detección de señales de alimentación y desove en peces silvestres.

Se ganó también experiencia con varios modelos de marcas archivadoras provistas por las empresas Wildlife Computers y Lotek Wireless. Se ha probado la vida útil de las baterías, la fiabilidad de la geolocalización, y la resistencia y durabilidad de las marcas, factores importantes al decidir cuál marca usar para experimentos *in situ*.

5.8. Desarrollo de la visión en el atún aleta amarilla

Los atunes son depredadores muy activos que dependen principalmente de la visión para detectar, seguir, y capturar sus presas. La retina en los atunes se encuentra altamente desarrollada, con bastones y conos sencillos y dobles (Margulies 1997). La resolución a lo largo del eje visual de los atunes es la más alta conocida en los peces teleosteos (Tamura y Wisby 1963, Nakamura 1969). Estudios previos sugirieron que los atunes adultos poseen solamente dos pigmentos visuales en la retina (uno en los bastones y el otro en los conos), y que son monocromáticos de cono (es decir, no pueden distinguir colores). Partiendo de trabajo previo sobre el desarrollo visual en los escómbridos costeros, se iniciaron estudios de la visión del aleta amarilla en estudios conjuntos con dos eminentes fisiólogos de visión, los Dres. Ellis Loew, de la Universidad Cornell, y William McFarland, de la Universidad de Washington. Estos estudios, publicados por Loew *et al.* (2002), consistieron de análisis microespectrofotométricos (MSP) de los fotorreceptores retinales del aleta amarilla larval, juvenil, y adulto. Fueron reportados varios descubrimientos inesperados. Se documentó la existencia de un tercer pigmento sensible a violeta, nunca antes reportado, en los conos sencillos del aleta amarilla larval, juvenil, y adulto. Además, las larvas no sólo tenían mezclas de los dos pigmentos de los conos adultos (sensibles a violeta y azul), sino también al menos un tercer pigmento, sensible a verde. A medida que crecen las larvas, el pigmento sensible a verde, de longitud de onda mayor, desaparece en la etapa juvenil temprana y la sensibilidad espectral converge en la condición adulta (Figura 9). Loew *et al.* concluyeron que sus resultados no contradecían la sugerencia anterior que los atunes adultos son daltónicos, pero que no se debería considerar más que los atunes son isocromáticos (o sea, que tienen pigmentos visuales diferentes en sus conos sencillos y dobles). Además,

sugirieron que el rango extendido de sensibilidad espectral en las larvas del aleta amarilla mejora el éxito de detección y captura de presas zooplanctónicas, especialmente si las presas muestran un mayor contraste con el fondo visual en las longitudes de onda mayores (por ejemplo, contienen clorofila-a).

5.9. Crecimiento del aleta amarilla larval y juvenil en el laboratorio e *in situ*

En las etapas de vida antes del reclutamiento, no es solamente la tasa de mortalidad (M) que determina la supervivencia por etapa, sino también la tasa de mortalidad/crecimiento (M/G), la tasa de mortalidad por etapa o ‘fisiológica’ (o sea, la mortalidad por unidad de crecimiento) (Houde 1997). Una pequeña variabilidad en la mortalidad instantánea o las tasas de crecimiento por etapa puede generar grandes cambios en el nivel de la población en etapas dadas. La variabilidad del crecimiento por sí sola tiene el potencial de afectar la duración de las etapas y la mortalidad acumulativa durante las etapas larval y juvenil de vida (Houde 1989). Se enfocó gran parte de los esfuerzos experimentales tempranos con el aleta amarilla en investigaciones de la dinámica de crecimiento durante las etapas larval y juvenil temprana.

Desde 1997, se ha estudiado el crecimiento en el laboratorio de las larvas y juveniles de aleta amarilla criados de huevos de los aletas amarillas reproductores. Se han investigado los efectos de la disponibilidad de alimento, la temperatura del agua, y otros factores físicos sobre la supervivencia y crecimiento de las larvas y juveniles hasta 65 días después de la eclosión. El crecimiento de las larvas tempranas (la primera semana) es exponencial en talla y peso ($<0,3$ mm día⁻¹ de talla y 20 a 30% de peso del cuerpo día⁻¹), pero el crecimiento aumenta significativamente durante las etapas larval tardía y juvenil temprana ($>0,5$ mm día⁻¹ y aprox. 30-50% de peso de cuerpo día⁻¹) (Figuras 10 y 11). Las larvas se vuelven piscívoras alrededor de los 6,5 mm TE, y cuándo comienza la piscivoría probablemente determina, en parte, el potencial de crecimiento del individuo. Las cohortes de laboratorio que son piscívoros tempranos (aprox. 6,0-7,0 mm TE) crecen más rápidamente, y los individuos que siguen zooplanctívoros crecen más lentamente y/o son comidos por los otros. Las cohortes de laboratorio que más rápidamente crecen parecen ser influenciados por temperatura de agua alta y/o densidad poblacional menor (ver Sección 5.10), y las que más lentamente crecen parecen ser afectadas más por densidades más altas y/o temperaturas bajas. Las pruebas preliminares indicaron que la dependencia de la densidad del crecimiento se extiende probablemente a la etapa juvenil temprana. Durante la etapa larval, hasta pequeñas cantidades de microzooplancton silvestre en la dieta puede promover tasas de crecimiento mayores cuando los niveles de alimento de fondo de presas cultivadas son bajos. En comparación con las tasas de crecimiento de aletas amarillas capturados en el mar, las mejores tasas de crecimiento en el laboratorio hasta la fecha han sido un 12% inferiores a las del peor grupo en el mar, pero la talla a edad de los peces de laboratorio es cercana a aquélla de los peces capturados en el mar poco después de ser introducida una dieta piscívora (Figura 12).

La dieta parece ejercer el efecto más importante sobre la supervivencia y el crecimiento durante la etapa juvenil temprana, y podrían ser afectadas secundariamente por la temperatura del agua y la densidad de los peces. Durante unos 30 días después de la eclosión, la supervivencia en el laboratorio es generalmente menos del 1%, aunque la supervivencia de cohortes individuales ha alcanzado entre el 5 y 10%. Se han criado cohortes experimentales de juveniles hasta 65 días después de la eclosión, y el récord para la cría de un individuo es 100 días después de la eclosión. Se piensa seguir explorando los efectos interactivos de la densidad, temperatura, y dieta sobre el crecimiento y supervivencia de los juveniles.

Durante las temporadas de lluvia de 1990, 1991, 1992, y 1997, se capturaron larvas de aleta amarilla con luz submarina y salabardo para examinar la variación temporal del crecimiento *in situ* en el Golfo de Panamá (Wexler *et al.* 2007). Es difícil distinguir las larvas de las distintas especies de *Thunnus* sp., y en el OPO, las larvas de aleta amarilla y patudo pueden ser distinguidas solamente mediante análisis de mtADN o alozimas (Graves *et al.* 1988, Chow y Kishino 1995). En este estudio, se identificaron las larvas de aleta amarilla con análisis de mtADN. Lang *et al.* (1994) informaron del crecimiento de larvas de aleta amarilla en el Golfo de México, pero las larvas eran más jóvenes que en este estudio, y las

identificaciones no fueron definitivas. Wexler *et al.* reportaron que la disponibilidad de plancton en el Golfo de Panamá parecía afectar fuertemente el crecimiento de las larvas de aleta amarilla. Los volúmenes máximo y mínimo de plancton estimados a partir de estudios de ictioplancton (ver Sección 4.5) correspondieron con las tasas de crecimiento y tallas medias por edad máximas y mínimas de larvas capturadas en 1990 y 1991, respectivamente. La temperatura del agua, aunque constituye un factor físico potente en la dinámica del crecimiento, no pareció afectar las diferencias interanuales en el crecimiento de las larvas durante las temporadas de afloramiento reducido, cuando la temperatura superficial media varió de 27,6° a 29,1°C. Altas densidades de peces larvales fueron asimismo dominantes en los arrastres de ictioplancton durante la temporada de lluvias de 1991, y la competencia intra- e interespecífica por los recursos limitados de alimento podrían haber sido el factor causal del crecimiento más lento de las larvas durante ese período (es decir, crecimiento dependiente de la densidad).

5.10. Estudios de laboratorio de los efectos de factores físicos y densidad larval sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas de aleta amarilla

Los estudios *in situ* y experimentales han señalado que la disponibilidad y composición de las presas son muy importantes para controlar el crecimiento y supervivencia de las larvas y juveniles tempranos de aleta amarilla. Durante los primeros estudios de laboratorio, se identificaron varios factores físicos, incluyendo temperatura del agua, oxígeno disuelto, microturbulencia, e intensidad de luz, que mostraron un potencial fuerte de efectuar cambios importantes en la supervivencia y crecimiento. Se descubrió también que la densidad de las larvas afecta el crecimiento. A partir de 1997, se realizó una serie de experimentos de laboratorio para examinar los efectos potenciales de estos factores sobre el crecimiento y la supervivencia de las larvas.

La temperatura del agua pueden desempeñar un papel importante en la ocurrencia del desove del aleta amarilla, y puede ejercer efectos importantes sobre el tamaño de los huevos, la duración de la etapa de huevo, el tamaño de las larvas al eclosionar, y la duración de la etapa de saco vitelino (Margulies *et al.* en prensa). La influencia de la temperatura del agua sobre las características de los huevos y larvas puede a la larga afectar la dinámica del crecimiento durante las etapas posteriores (Houde 1997). Además, la temperatura del agua y los niveles de oxígeno disuelto son muy importantes para fijar límites fisiológicos sobre el desove, el desarrollo de huevos y larvas, y, en última instancia, los límites físicos de la distribución en el océano. Se realizó una serie de experimentos de laboratorio en 2004 y 2005 para examinar los límites letales de temperatura del agua y oxígeno disuelto sobre los huevos y larvas de aleta amarilla. Los resultados indicaron las larvas en primera alimentación no son capaces de alimentarse y sobrevivir a temperaturas $\leq 20^{\circ}\text{C}$ durante el primer día de alimentación y a temperaturas $\geq 34^{\circ}\text{C}$ después de los dos primeros días de alimentación; en cambio, pueden sobrevivir a 21°C y 33°C hasta 3 días después de la primera alimentación. Los huevos parecen desarrollarse y eclosionar normalmente a temperaturas entre 19° y 20°C o entre 32° y 35°C, pero las larvas de saco vitelino que sobreviven parecen malformadas, con poco movimiento, durante las primeras 18 horas después de la eclosión a temperaturas $\leq 20^{\circ}\text{C}$ o $\geq 34^{\circ}\text{C}$. La eclosión se demora en huevos incubados a 36°C, y todas las larvas se mueren antes de eclosionar o poco después. Los resultados de los experimentos de oxígeno disuelto indicaron que, a una temperatura media del agua de 27,1°C, las larvas durante las 8 primeras horas de alimentación pueden sobrevivir a niveles de oxígeno disuelto de más de 2,20 mg/L (más del 33% de saturación de oxígeno). A temperaturas medias de entre 27,9° y 28,3°C, los huevos parecen desarrollarse y eclosionar normalmente cuando son incubados a niveles medios de oxígeno disuelto de 2,7 mg/L (41% de saturación de oxígeno), 2,0 mg/L (31% de saturación de oxígeno), y 1,7 mg/L (25% de saturación de oxígeno), pero las larvas de saco vitelino no sobreviven más que 12 a 15 horas después de la eclosión a niveles medios de oxígeno disuelto de $\leq 2,0$ mg/L.

Varios estudios de diferentes océanos han indicado que las larvas de aleta amarilla se encuentran solamente a profundidades de menos de 50 m en la capa de mezcla, con densidades máximas principalmente en los 15 m superiores (Leis *et al.* 1991, Boehlert *et al.* 1992, Boehlert y Mundy 1994). A partir de nuestros experimentos recientes con temperatura y oxígeno, creemos que la distribución vertical,

y en cierto grado la distribución horizontal, de las larvas de aleta amarilla de saco vitelino y en primera alimentación larvas es determinada por las limitaciones físicas de temperatura del agua y oxígeno disuelto. Los datos físicos obtenidos de los estudios costeros de ictioplancton entre 1989 y 1991 reflejan las diferencias estacionales de temperatura y nivel de oxígeno a profundidad (Figura 13) (Owen, 1997). Con base en los resultados experimentales, la profundidad crítica para la supervivencia de las larvas de aleta amarilla ocurriría a menos de 30 m durante la temporada seca y a menos de 50 m durante la temporada de lluvias, a partir de la temperatura del agua solamente. Probablemente no ocurrirían déficits de oxígeno a profundidades de menos de 50 m.

El éxito de alimentación de las larvas de peces marinos puede ser afectado por los niveles de turbulencia a microescala inducida por el viento en el ambiente de alimentación (Rothschild y Osborn 1988, Cury y Roy 1989). Es posible que la probabilidad de encontrar presas y de éxito de alimentación de las larvas aumente con incrementos de la turbulencia a microescala inducida por el viento hasta un nivel asintótico de viento y turbulencia y luego disminuye a niveles mayores de turbulencia (MacKenzie *et al.* 1994). Nuestros estudios de alimentación de larvas de aleta amarilla en Japón en 1992 indicaron un fuerte potencial de influencia de turbulencia a microescala sobre el éxito de alimentación de las larvas de aleta amarilla. Se ampliaron estas investigaciones durante 1997-2000 en una serie de experimentos de laboratorio en el Laboratorio de Achotines, en los que se examinó la supervivencia de las larvas de aleta amarilla durante la primera semana de alimentación bajo condiciones de microturbulencia variable. La turbulencia en los tanques experimentales fue medida como la velocidad horizontal media de un objeto de capacidad neutra de flotación en la superficie. En 1999 y 2000, estas velocidades fueron calibradas con velocidades medidas a profundidad con un medidor de corrientes microacústico. El análisis de los datos continúa, pero Kimura *et al.* (2004) presentaron resultados preliminares.

Nuestro análisis preliminar de los datos de 1997-2000 indica que la supervivencia durante la primera semana de alimentación es hasta 2,7 veces mayor con niveles intermedios de microturbulencia (aprox. $1 - 2.4 \times 10^{-8} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-3}$ como tasa de disipación de energía) que con niveles bajos o altos (Figura 14). Usando un modelo de la capa de separación que equipara los niveles de microturbulencia en la capa de mezcla con la velocidad del viento, se hicieron estimaciones preliminares de la velocidad del viento óptima para la supervivencia de las larvas de aleta amarilla, basadas en supuestos de la profundidad de la concentración máxima de larvas (estimada a partir de datos en la literatura de estudios de larvas en el mar). Las estimaciones de la velocidad óptima del viento son: (1) concentración máxima de larvas a 10 m: 2,6-3,5 m sec^{-1} ; y (2) concentración máxima de larvas a 20 m: 3,2-4,5 m sec^{-1} . Estas estimaciones son las primeras reportadas para las etapas tempranas de vida de los atunes, y las primeras estimaciones de los efectos de la microturbulencia sobre la supervivencia de larvas marinas basadas en pruebas experimentales extendidas. Estamos ahora comparando estas estimaciones experimentales de la velocidad óptima del viento con datos históricos de velocidad del viento en el OPO tropical. La meta es identificar patrones de asociación entre la mezcla inducida por el viento y el reclutamiento del aleta amarilla.

Los estudios realizados en el Laboratorio de Achotines del desarrollo de la visión en el aleta amarilla sugirieron que el éxito de alimentación (y eventual supervivencia) de las larvas es afectado por las características espectrales del ambiente de alimentación y los organismos de presa (Loew *et al.* 2002). Se investigaron también los efectos de la intensidad de luz sobre el éxito de alimentación y supervivencia de las larvas de aleta amarilla. En un experimento en 2002, las larvas fueron expuestas a tres intensidades de luz, y se estimó la supervivencia al cabo de 10 días de alimentación. La supervivencia con la intensidad alta de luz fue de 3 a 10 veces aquella con la intensidad de luz mediana o baja. Estos resultados indican que la intensidad de luz, así como las características espectrales del ambiente de alimentación, desempeña un papel en el éxito de alimentación de las larvas de aleta amarilla. Una vez plenamente analizados los resultados experimentales, se comparará la intensidad óptima de luz estimada en el laboratorio con niveles de luz medidos en aguas de la capa de mezcla del océano, para permitir predecir la profundidad óptima para el éxito de alimentación de las larvas de aleta amarilla.

La variabilidad de las tasas de crecimiento en las etapas larval y juvenil de los peces marinos es sustancial, y tiene un gran potencial de afectar la tasa M/G durante las etapas de vida antes del reclutamiento (Houde 1997). La regulación del crecimiento que depende de la densidad ha sido identificada como un factor potencialmente importante en el control de la supervivencia antes del reclutamiento (Shepherd y Cushing 1980, Rothschild 1986). En el caso del aleta amarilla, una mortalidad que depende de la densidad podría debilitar cualquier relación entre la producción de huevos y un reclutamiento consistente con la evaluación de la CIAT de la población de aleta amarilla (Maunder y Harley 2005). Es posible que una dependencia de la densidad en el éxito de alimentación y crecimiento durante la etapa larval pueda contribuir a variaciones en la supervivencia del aleta amarilla antes del reclutamiento. Nuestros resultados experimentales indicaron un comienzo temprano en el aleta amarilla de crecimiento sustancial dependiente de la densidad durante las primeras 2,5 semanas después de la eclosión. Incrementos de 2 a 4 veces en la densidad larval han resultado en déficits de crecimiento de hasta 35% durante las etapas larvales (Figura 15). También se observaron indicios indirectos fuertes de crecimiento dependiente de la densidad en cohortes larvales durante ciertos años en el Golfo de Panamá (Wexler *et al.* 2007). El potencial de dependencia de la densidad en el crecimiento y/o supervivencia en las etapas juveniles tempranas del aleta amarilla es probablemente significativa, y requerirá más estudios.

5.11. Estudios de la alimentación de larvas y juveniles de aleta amarilla en el laboratorio

Los patrones de alimentación en los peces larvales reflejan las características metabólicas y de crecimiento de las etapas de vida antes del reclutamiento. Las larvas de peces marinos buscan alimento selectivamente, incrementando normalmente el tamaño medio de las presas pero al mismo tiempo siguiendo con presas abundantes más pequeñas en la dieta (Houde 1997). El ciclo vital temprano de los escómbridos es caracterizado por un crecimiento rápido, tasas metabólicas altas, y un patrón de búsqueda de alimento de añadir presas grandes y relativamente escasas a la dieta, lo cual a menudo resulta en el comienzo temprano de la piscivoría (Hunter 1981, Margulies *et al.* 2001). Desde 1997, hemos realizado en el Laboratorio de Achotines experimentos de laboratorio diseñados para examinar la selectividad de alimento y la capacidad diaria de alimentación de los aletas amarillos larvales y juveniles tempranos. Tal como se comentó previamente, nuestros estudios preliminares en Japón en 1992 indicaron que las larvas de aleta amarilla se alimentan de forma selectiva, e incrementan el tamaño medio de las presas a medida que crecen. En Achotines se ampliaron estos estudios de laboratorio para examinar los patrones de selectividad de alimento en larvas de aleta amarilla en primera alimentación y mayores (1-2 semanas de edad). Se realizaron también pruebas de laboratorio para examinar la capacidad de alimentación diaria de las larvas de aleta amarilla de hasta 3 semanas de edad. Continúa el análisis de los datos de selectividad de alimento, pero los resultados preliminares de las pruebas de alimentación diaria indican que el aleta amarilla se alimenta solamente en horas diurnas durante las etapas larvales. Cuando se examinen completamente los resultados de alimentación en el laboratorio, se contará con conocimientos mucho mejores de los patrones de selección de alimento y de las bases de la piscivoría temprana en las larvas de aleta amarilla, y se compararán los resultados de laboratorio del aleta amarilla con las dietas y los patrones de selectividad de alimento mostrados por las larvas de escómbridos *in situ* de los estudios de larvas tempranas en el Golfo de Panamá.

5.12. Resultados de investigación clave de los estudios del atún aleta amarilla

Los estudios de la biología reproductora y el ciclo vital temprano del atún aleta amarilla realizados desde 1996 en el Laboratorio de Achotines han contribuido de forma significativa a los conocimientos de la biología del aleta amarilla y los factores que afectan la supervivencia antes del reclutamiento. Los resultados clave del programa de investigación del aleta amarilla son los siguientes.

1. Se estableció una población desovadota de aleta amarilla, representa la primera ocasión en todo el mundo de desove sostenido de aleta amarilla en instalaciones terrestres. La dinámica del desove, el crecimiento, la genética, fisiología, y ciclo vital temprano del aleta amarilla fueron estudiados durante múltiples años.

2. Se elaboraron métodos para la captura, traslado, y cría del aleta amarilla. Una dieta de 50% calamar y 50% peces, como machuelos o anchoveta, parece brindar una nutrición adecuada para los aletas amarillos reproductores y sostiene un desove casi continuo. Las estimaciones del crecimiento en talla de los peces cautivos disminuyeron a medida que aumentó la talla de los peces, y variaron de 8 a 48 cm año⁻¹ durante 1996-2001 y de 4 a 65 cm año⁻¹ durante 1999-2006. Se estimó el crecimiento en peso en 9 a 26 kg año⁻¹ durante 1996-2001 y 1 a 25 kg año⁻¹ durante 1999-2006, y estas estimaciones asimismo disminuyen a medida que aumenta el peso de los peces. El ambiente estable de los tanques en tierra parece fomentar buena salud y desove sostenido en el aleta amarilla.
3. Se describieron los patrones de desove del aleta amarilla en relación con factores físicos y biológicos. Los peces reproductores siguieron desovando mientras recibieron raciones diarias adecuadas de alimento y la temperatura del agua fue >23,3° C. La temperatura del agua parece ser el principal factor exógeno que controla la ocurrencia y hora del desove del aleta amarilla. Los comportamientos de cortejo y desove son ritualizados, y el aleta amarilla parece poseer la capacidad de ajustar la hora y los procesos finales de maduración del desove con base en cambios diminutos de la temperatura del agua. Por ejemplo, ajusta la hora del desove en relación con la temperatura del agua, resultando en un rango estrecho para la hora de eclosión. Este patrón parece ser adaptativo como forma de maximizar la supervivencia de las larvas de saco vitelino al mantener la hora de desove durante períodos de luz baja u oscuridad (fines de la tarde o principios del atardecer).
4. Se estimó la edad de primer desove de las aletas amarillas hembras en cautiverio en entre 1,3 y 2,8 años, con un promedio ligeramente inferior a los 2,0 años. Durante períodos de tiempo cortos (<1 mes), las hembras desovadoras incrementaron su producción de huevos entre 30 y 234% en reacción a aumentos a corto plazo de la ración diaria de entre 9 y 33%. La capacidad de incrementar la producción de huevos en reacción a una mayor abundancia de alimento posee significado adaptativo, y permitiría al aleta amarilla aprovechar recursos alimenticios distribuidos irregularmente y aumentos periódicos de producción en el océano.
5. Se realizó un seguimiento genético de los aletas amarillos reproductores mediante una comparación de la variación del mtADN de las hembras desovadoras con aquella de sus huevos y larvas. El análisis identificó hembras desovadoras individuales y brindó estimaciones de la periodicidad de su desove. Las hembras son capaces de desovar a diario durante períodos extendidos, siempre que permanezcan en el rango adecuado de temperatura del agua (>24°C) y tengan suficiente alimento. La variación genética de la región *D-loop* del mtADN del aleta amarilla parece ser tan alta que es probablemente útil no solamente para la identificación de peces individuales, sino también para las investigaciones de la estructura de las poblaciones en el mar.
6. La temperatura del agua está relacionada de forma inversa y significativa con el tamaño de los huevos, la duración de la etapa de huevo, el tamaño de las larvas en el momento de eclosión, y la duración de la etapa larval de saco vitelino del aleta amarilla. En promedio, los huevos fertilizados del aleta amarilla tienen un diámetro de 1,0 mm y un peso seco de 43 µg. Las larvas eclosionadas miden en promedio 2,5 mm TE y pesan 30 µg, y las larvas en primera alimentación 3,3 mm TE y 22 µg. El potencial de crecimiento desde la etapa de larva temprana al tamaño de reclutamiento (30 cm, 6 meses de edad) es muy alto, cercano a 10⁶ a 10⁷ veces.
7. Se describió el desarrollo de la sensibilidad visual en los aletas amarillos larvales, juveniles, y adultos. Los adultos tienen al menos tres pigmentos visuales en la retina, y quizá puedan distinguir colores (es decir, no son daltónicos). Las larvas tienen no sólo mezclas de los pigmentos de cono adultos (sensibles a violeta y azul), sino también un tercer pigmento sensible a verde. La sensibilidad juvenil suele convergir en la condición adulta. La sensibilidad espectral del aleta amarilla adulto es probablemente adaptativa a la luz azulada ambiental característica del mar abierto, mientras que la sensibilidad larval sobre un rango espectral extendido es probablemente adaptativo para la planctivoría en los hábitats de la capa de mezcla.

8. Los experimentos de laboratorio y el análisis de crecimiento *in situ* indicaron que el crecimiento de larvas tempranas (la primera semana) es exponencial en talla y peso ($<0,3 \text{ mm día}^{-1}$ en talla y 20 a 30% día^{-1} en peso seco), pero las tasas de crecimiento aumentan significativamente durante las etapas larval tardía y juvenil temprana ($>0,5 \text{ mm día}^{-1}$ en talla y aprox. 30-50% día^{-1} en peso seco). La temperatura del agua posee un fuerte potencial para afectar las tasas metabólicas y los procesos fisiológicos, pero su efecto sobre el crecimiento somático del aleta amarilla durante las etapas tempranas de vida podría ser secundario a la disponibilidad de alimento. Los niveles y composición de las presas son importantes para el control del crecimiento larval y juvenil. El crecimiento aumenta significativamente en el laboratorio durante la etapa larval tardía ($>7 \text{ mm TE}$), cuando los aletas amarillas cambian de una dieta de zooplancton a una dieta de peces. En la naturaleza, un comienzo temprano de la piscivoría ayuda probablemente a incrementar el crecimiento y reducir la susceptibilidad a la depredación.
9. Las larvas de aleta amarilla muestran dependiente de la densidad durante las dos primeras semanas de alimentación en el laboratorio. Incrementos de 2 a 4 veces en la densidad larval resultan en déficits de crecimiento de hasta 35% en peso. Se ignora el potencial de dependencia de la densidad en el crecimiento y/o supervivencia en las etapas juveniles tempranas del aleta amarilla, pero es potencialmente significativo. La dependencia de la densidad en el crecimiento posee el potencial de control al menos grueso de la supervivencia del aleta amarilla antes del reclutamiento. Se detectaron indicios indirectos fuertes de crecimiento dependiente de la densidad de aletas amarillas larvales *in situ* durante ciertos años en el Golfo de Panamá.
10. Las investigaciones de laboratorio indicaron que la turbulencia a microescala afecta fuertemente el éxito de alimentación y supervivencia de las larvas de aleta amarilla durante la primera semana de alimentación. Niveles intermedios de turbulencia a microescala (aprox. $1 - 2,4 \times 10^{-8} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-3}$ como tasa de disipación de energía) soportan tasas de supervivencia después de una semana de alimentación que son más de 2,7 veces mayores que aquéllas con niveles de turbulencia alto o bajo. Estos niveles de turbulencia óptimos para la alimentación, al ser convertidos en tasas de mezcla inducida por el viento en el océano, son equivalentes a velocidades del viento de 2,6 a 4,5 m sec^{-1} (a partir del supuesto que la abundancia de las larvas de aleta amarilla es máxima a una profundidad de 10 ó 20 m). Estamos ahora comparando estas estimaciones experimentales de la velocidad óptima del viento con datos históricos de velocidad del viento y reclutamiento de aleta amarilla en el OPO tropical. La meta es identificar patrones de asociación entre la mezcla inducida por el viento y el reclutamiento del aleta amarilla.
11. Se estimaron en pruebas de laboratorio los límites letales de temperatura del agua y oxígeno disuelto para los huevos y larvas de aleta amarilla. Los resultados indican que la distribución vertical, y en cierto grado la distribución horizontal, de las larvas de aleta amarilla de saco vitelino y en primera alimentación larvas es determinada por las limitaciones físicas de temperatura del agua y oxígeno disuelto. En el Golfo de Panamá, la profundidad crítica para la supervivencia de las larvas de aleta amarilla ocurriría a menos de 30 m durante la temporada de afloramiento (cuando la profundidad de la capa de mezcla es menor), y a menos de 50 m durante la temporada de afloramiento reducido, a partir de la temperatura del agua solamente.
12. Se realizaron pruebas en el Laboratorio de Achotines para investigar la factibilidad de desarrollar aparatos para reducir la captura incidental, tales como rejillas clasificadoras y cortinas de burbujas, que permitirían a los peces pequeños escapar de la red de cerco pero retendrían a los peces grandes. Los resultados de las pruebas indican que los aletas amarillas nadan a través de las rejillas clasificadoras, y se muestran reacios a pasar por las cortinas de burbujas. Estas dos técnicas merecen ser sometidas a pruebas más extensas en el mar, para probar su eficacia como métodos de clasificación para reducir la mortalidad de peces sin valor comercial.
13. Se realizaron pruebas en el Laboratorio de Achotines para examinar el uso de marcas archivadoras

implantadas para la detección de eventos de alimentación y desove en el aleta amarilla. Los resultados preliminares señalan que las marcas pueden detectar cambios en la temperatura peritoneal que corresponden con señales de alimentación y desove. Esta tecnología es muy prometedora para la detección de señales de alimentación y desove en peces silvestres, y se están prosiguiendo las pruebas.

5.13. Recomendaciones para investigaciones futuras

La investigación de la biología y el ciclo vital temprano del aleta amarilla seguirá siendo el enfoque principal de los estudios en el Laboratorio de Achetines. Se integrarán los conocimientos adquiridos en los últimos nueve años para diseñar proyectos de investigación nuevos o revisados para estudiar la biología reproductora y el ciclo vital temprano del aleta amarilla. Se recomiendan los siguientes temas de estudio como enfoques principales de la investigación.

1. Se deberían mantener los aletas amarillas reproductores para promover el desove continuo todo el año. Se seguiría usando los huevos y larvas criados en el programa experimental en el laboratorio.
2. Los estudios experimentales del ciclo vital temprano del aleta amarilla deberían seguir como el enfoque principal de la investigación en el Laboratorio de Achetines. Las investigaciones de los últimos nueve años han resultado en nuevas percepciones importantes de las etapas de vida del aleta amarilla antes del reclutamiento. Nuestro método experimental ha comprendido investigaciones de factores de un solo proceso (por ejemplo, temperatura, alimento, microturbulencia, densidad de larvas) que afectan la supervivencia antes del reclutamiento. Más y más, el programa de investigación debería empezar a enfocarse en los efectos de procesos múltiples sobre el crecimiento y la supervivencia durante las etapas larval y juvenil. Se recomienda lo siguiente para estudios futuros.

a. Dinámica de mortalidad/crecimiento

Se debería estudiar la variabilidad espacial y temporal de la mortalidad/crecimiento (M/G) en relación con los factores ambientales que se cree afectan el reclutamiento del aleta amarilla. Los cambios por etapa en la mortalidad y crecimiento, y la variabilidad asociada con esos cambios, podrían permitir la identificación de etapas transicionales durante la vida antes del reclutamiento. Es posible que existan relaciones entre la M/G por etapa o talla y los niveles de reclutamiento (Houde 1997). De nuestra investigación anterior, contamos con buenos conocimientos del potencial y variabilidad del crecimiento de las larvas y juveniles tempranos de aleta amarilla. Se deberían ahora elaborar conocimientos más completos de los procesos de mortalidad diaria durante las etapas larval y juvenil temprana y de cómo la mortalidad es afectada por los factores siguientes:

- disponibilidad y composición del alimento;
- temperatura del agua;
- la interacción de la disponibilidad de alimento y la temperatura del agua;
- la interacción de la turbulencia a microescala y la densidad larval;
- la interacción del crecimiento larval y la depredación selectiva por tamaño.

Se sugiere que nuestro enfoque experimental, enfocado a nivel de individuo o cohorte experimental, podría resultar eficaz para adquirir nuevas percepciones de la supervivencia antes del reclutamiento que permitirían inferencias de la dinámica a nivel de población. Nuestro enfoque de proceso único al estudio del ciclo vital temprano del aleta amarilla debería ser integrado con estudios experimentales de factores múltiples. Estos estudios examinarían la forma en la que los factores ambientales clave interactúan para afectar la supervivencia antes del reclutamiento. Los resultados serían integrados en modelos que pueden ser usados para predecir dicha supervivencia a partir de factores ambientales y biológicos que pueden ser medidos (por ejemplo, biomasa reproductora, temperatura del agua, mezcla inducida por el viento, producción secundaria).

b. Producción de cohortes experimentales

Un enfoque útil al estudio de la dinámica M/G es la investigación de la producción de cohortes experimentales, en la cual grupos experimentales de larvas o juveniles tempranos son expuestos a factores ambientales clave y se mide la producción total de la cohorte (calculada como la biomasa de la cohorte multiplicada por la tasa de crecimiento). Este enfoque toma en cuenta los efectos interactivos de la mortalidad y crecimiento diarios, y es útil para predecir etapas transicionales importantes para la biomasa total de la cohorte, que puede ser un indicador clave de la fuerza de la cohorte. Hemos realizado varios experimentos preliminares con larvas de aleta amarilla, usando un análisis de producción de cohortes, y sugerimos que este enfoque sea ampliado en los diseños experimentales futuros.

c. Estudios de mesocosmo y tanques grandes

Recomendamos un mayor énfasis en el estudio de la dinámica de crecimiento y nutrición de los juveniles en el Laboratorio de Achotines. Las pruebas preliminares con el aleta amarilla indicaron que el crecimiento dependiente de la densidad podría ser significativo durante la etapa temprana juvenil, y estos estudios deberían ser ampliados. Contamos ahora con la capacidad de producir grandes números de aletas amarillas juveniles tempranos que pueden ser usados en pruebas experimentales replicadas. El volumen de los tanques sería una consideración importante en los estudios de juveniles. De nuestros experimentos en el laboratorio, se descubrió que los aletas amarillas juveniles son altamente móviles y muy capaces de alimentarse con manchas de presas en tanques pequeños. El tamaño de los tanques experimentales usados en el pasado (de entre 700 y 1200 L de volumen) es suficiente para permitir una búsqueda moderada de alimento por las larvas y los juveniles en transformación. Para las investigaciones del comportamiento, alimentación, y nutrición de los juveniles tempranos, se recomienda el uso de tanques de mayor tamaño (4000 L y más) para brindar volúmenes más realistas para la búsqueda de alimento. Esto debería incluir el uso de mesocosmos o envolturas de bolsa anclados en aguas costeras cerca del Laboratorio de Achotines. Estudios de juveniles permitirían además comparaciones entre juveniles criados en el laboratorio y peces silvestres de edad y/o talla similar capturados con luz de noche.

d. Comparaciones con los resultados de las evaluaciones de poblaciones

La CIAT mantiene una serie de tiempo completa de estimaciones del reclutamiento del aleta amarilla a las pesquerías de superficie del OPO. La capacidad de pronosticar el reclutamiento del aleta amarilla, antes de la edad de ingreso a la pesquería (6 meses), sería una herramienta potente para la evaluación de poblaciones. La meta final del programa experimental del ciclo vital temprano del aleta amarilla es contribuir nuevas percepciones de la variabilidad del reclutamiento. El programa experimental ha sido productivo, y se seguirán refinando las investigaciones de la supervivencia antes del reclutamiento. Algunas áreas de investigación que parecen especialmente prometedoras como herramientas para pronosticar el reclutamiento del aleta amarilla son el estudio del crecimiento juvenil y análisis de la mezcla inducida por el viento en el OPO tropical. Un índice de crecimiento juvenil, quizá estimado por trimestre en el Golfo de Panamá, podría resultar útil como índice de la fuerza del reclutamiento. Este tipo de programa de muestreo para estimar el crecimiento juvenil *in situ* podría ser desarrollado en el Laboratorio de Achotines mediante un muestreo trimestral o estacional de juveniles capturados de noche y la determinación de la edad de los mismos. Hemos realizado análisis similares del crecimiento *in situ* durante ciertos años en el Golfo de Panamá, y descubrimos cierta correspondencia local entre altas tasas de crecimiento de larvas y las estimaciones de reclutamiento estimaciones (Wexler *et al.* 2007). La turbulencia a microescala, normalmente resultado de mezcla inducida por el viento, produce diferencias de orden de magnitud en la supervivencia de las larvas de aleta amarilla en primera alimentación en experimentos de laboratorio. Usando datos de viento y estimaciones de reclutamiento históricos, estamos examinando las asociaciones potenciales entre la mezcla inducida por el viento y el reclutamiento del aleta amarilla en

el OPO. Además, nuestros estudios experimentales de los efectos de turbulencia a microescala deberían ser ampliados para examinar etapas de vida más avanzadas (larvas tardías y juveniles tempranos), y los efectos interactivos de la turbulencia y factores biológicos clave (por ejemplo, densidad de peces, niveles de alimento) sobre la supervivencia de las larvas de aleta amarilla.

3. Los estudios del desarrollo visual del aleta amarilla han sido productivos, y deberían ser continuados. Los estudios fisiológicos y del comportamiento de las larvas y juveniles tempranos podrían ser ampliados para extender más nuestros conocimientos de la importancia de la visión para el éxito de alimentación.
4. Son factibles estudios comparativos del ciclo vital temprano de los atunes aleta amarilla y aleta azul, y deberían ser proseguidos. El grupo de investigación de la CIAT del ciclo vital temprano goza de una larga relación con científicos japoneses que investigan los atunes (Margulies *et al.* 2001; Wexler *et al.* 2001; Niwa *et al.* 2003; Kimura *et al.* 2004). El Laboratorio de Achetines de la CIAT, la Estación Amami de la Agencia de Investigación Pesquera (FRA) de Japón, y el Laboratorio de Pesca de la Universidad de Kinki en Japón son en la actualidad los únicos centros de investigación en el mundo en los que tienen lugar desove y cría sostenidos de los atunes aleta amarilla y aleta azul. Recomendamos que se prosigan estudios conjuntos de la dinámica de la vida tempranas con científicos de estas otras instituciones, tal vez en colaboración con otros científicos japoneses. Existe mucho interés en estudios comparativos conjuntos del ciclo vital temprano del aleta amarilla y aleta azul entre nuestros colegas japoneses (Shukei Masuma, FRA; Shingo Kimura, Universidad de Tokio; com. pers.).
5. Los aletas amarillas subadultos y adultos capturados en aguas costeras del Golfo de Panamá que no sean usados como reproductores deberían ser usados en experimentos de tanque para estudiar temas de investigación de interés para científicos de la CIAT o externos. Los tanques en el Laboratorio de Achetines sirven para tratamientos experimentales replicados o duplicados de aletas amarillas de edades mayores. En los últimos años, hemos apoyado estudios del comportamiento y fisiología del aleta amarilla adulto, y estos tipos de estudios deberían ser ampliados. Los estudios experimentales podrían investigar la nutrición, comportamiento, y genética del aleta amarilla. El grupo de ciclo vital temprano ha desarrollado colaboraciones informales con el Dr. Del Gatlin y sus colegas de la Universidad A&M de Texas, y el Dr. Daniel Benetti y sus estudiantes de posgraduado de la Universidad de Miami, para estudiar la nutrición del aleta amarilla adulto y juvenil, y estas colaboraciones deberían continuar.
6. Los aletas amarillas reproductores en el tanque grande (Tanque 1) en el Laboratorio de Achetines pueden ser manipulados a corto plazo para investigar la genética y fisiología de los peces en desove. Nuestra colaboración en los estudios genéticos con el Dr. Seinen Chow, del Instituto Nacional de Investigación de Pesquerías de Ultramar de Japón, debería continuar. Los aletas amarillas reproductores podrían ser usados para elaborar análisis más rápidos y sofisticados. Se podría desarrollar un seguimiento casi en tiempo real de la variación genética y perfiles de desove para el aleta amarilla mediante análisis tales como marcadores microsatélite de ADN o de polimorfismo de conformación monofilico (SSCP).
7. El desarrollo de atunes reproductores adicionales, tales como el patudo o barrilete, es factible en el Laboratorio de Achetines. Sería posible obtener patudos reproductores de forma oportunista de buques cerqueros comerciales o de un cañero fletado para estudios de marcado. Si los peces fueran capturados por un cañero, podrían ser mantenidos en las cubas de carnada y transportados de aguas de altura al Laboratorio de Achetines. Los patudos capturados con red de cerco podrían ser remolcados al Laboratorio de Achetines en una red de transporte construida de malla comercial. El atún barrilete abunda en ciertas temporadas en el Golfo de Panamá, y podría ser capturado y transportado en embarcaciones locales fletadas. Nuestro objetivo sería tener al menos dos especies de atunes (aleta amarilla y una otra) desovando en cautiverio en el Laboratorio de Achetines.

LITERATURE CITED—LITERATURA CITADA

- 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.
- Boehlert, G.W., W. Watson, and L.C. Sun. 1992. Horizontal and vertical distributions of larval fishes around an isolated oceanic island in the tropical Pacific. *Deep Sea Res.* 39: 439-466.
- Chow, S. and H. Kishino. 1995. Phylogenetic relationships between tuna species of the genus *Thunnus* (Scombridae: Teleostei): inconsistent implications from morphology, nuclear and mitochondrial genomes. *J. Mol. Evol.* 41: 741-748.
- Chow, S., V.P. Scholey, A. Nakazawa, D. Margulies, J.B. Wexler, R.J. Olson, and K. Hazama. 2001. Direct evidence for Mendelian inheritance of the variations in the ribosomal protein gene introns in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Mar. Biotechnol.* 3: 22-26.
- Clemens, H.B. 1956. Rearing larval scombrid fishes in shipboard aquaria. *Calif. Fish Game* 42: 69-79.
- Cury, P. and C. Roy. 1989. Optimal environmental window and pelagic fish recruitment success in upwelling areas. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 670-680.
- 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.
- Dickson, K.A. 1994. Tunas as small as 207 mm fork length can elevate muscle temperatures significantly above ambient water temperature. *J. Exper. Biol.* 190: 79-93.
- Dickson, K.A., N.M. Johnson, J.M. Donley, J.A. Hoskinson, M.W. Hansen, and J.D. Tessier. 2000. Ontogenetic changes in characteristics required for endothermy in juvenile black skipjack tuna (*Euthynnus lineatus*). *J. Exper. Biol.* 203: 3077-3087.
- FAO. 2004. Fisheries statistics: capture production, 2002. *FAO Yearb., Fish Stat.* 94.
- Graves, J.E., M.A. Simovich, and K.M. Schaefer. 1988. Electrophoretic identification of early juvenile yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Fish. Bull.* 86: 835-838.
- Houde, E.D. 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symposium* 2: 17-29.
- Houde, E.D. 1989. Comparative growth, mortality and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. *Fish. Bull.* 87: 471-495.
- Houde, E.D. 1997. Patterns and consequences of selective processes in teleost early life histories. *In* R.C. Chambers and E.A. Trippel (editors), *Early Life History and Recruitment in Fish Populations*, Chapman and Hall, London: 173-196.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. *In* R. Lasker (editor), *Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries*, University of Washington Press, Seattle: 33-77.
- IATTC-CIAT. 1993. Annual report of the Inter-Am. Trop. Tuna Comm. 1992, La Jolla, CA: 315 pp.
- IATTC-CIAT. 1995. Annual report of the Inter-Am. Trop. Tuna Comm. 1994, La Jolla, CA: 296 pp.
- IATTC-CIAT. 2004. Annual report of the Inter-Am. Trop. Tuna Comm. 2003, La Jolla, CA: 98 pp.
- Kimura, S., H. Nakata, D. Margulies, J.M. Suter, and S.L. Hunt. 2004. Effect of oceanic turbulence on the survival of yellowfin tuna larvae. *Nippon Suisan Gakkaishi* 70: 175-178 (In Japanese with English abstract).
- Lang, K.L., C.B. Grimes, and R.F. Shaw. 1994. Variations in the age and growth of larval yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, collected about the Mississippi River plume. *Environ. Biol. Fishes* 39: 259-270.
- Lauth, R.R. and R.J. Olson. 1996. Distribution and abundance of larval Scombridae in relation to the physical environment in the northwestern Panama Bight. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 21:

125-167.

- 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.
- Loew, E.R., W.N. McFarland, and D. Margulies. 2002. Developmental changes in the visual pigments of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 35: 235-246.
- 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. Freshw. Behav. Physiol.* 30: 75-98.
- Margulies, D., J.B. Wexler, K.T. Bentler, J.M. 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: 9-51.
- Margulies, D., J.M. Suter, S.L. Hunt, R.J. Olson, V.P. Scholey, J.B. Wexler, and A. Nakazawa. In press. Spawning and early development of captive yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Fish. Bull.*
- 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.
- Maunder, M.M. and S.J. Harley. 2005. Status of yellowfin tuna in the eastern Pacific Ocean in 2003 and outlook for 2004. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Stock Assessment Report* 5: 5-108.
- Nakamura, E.L. 1969. Visual acuity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. In A. Ben-Tuvia and W. Dickson (editors), *Proceedings of the FAO Conference on Fish Behaviour in Relation to Fishing Techniques and Tactics*, Bergen, Norway: 19-27.
- Nelson, P.A., V.P. Scholey, R.J. Olson, and D. Margulies. In review. The behavioral response of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) to bycatch reduction devices for commercial purse seine fisheries, with notes on yellowfin morphometrics. Submitted to *ICES J. Mar. Sci.*
- Niwa, Y., A. Nakazawa, D. Margulies, V.P. Scholey, J.B. Wexler, and S. Chow. 2003. Genetic monitoring for spawning ecology of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) using mitochondrial DNA variation. *Aquaculture* 218: 387-395.
- 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*. *Fish. Bull.* 88: 821-828.
- Owen, R.W. 1989. Microscale and finescale patchiness of small plankton in coastal and pelagic environments. *J. Mar. Res.* 47: 197-240.
- Owen, R.W. 1997. Oceanographic atlas of habitats of larval tunas in the Pacific Ocean off the Azuero Peninsula, Panama. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Data Report* 9: 31 pp.
- Rothschild, B.J. 1986. *Dynamics of Marine Fish Populations*. Harvard Univ. Press, Cambridge: 277 pp.
- Rothschild, B.J. and T.R. Osborn. 1988. Small-scale turbulence and plankton contact rates. *J. Plank. Res.* 10: 465-474.
- Schaefer, K.M. 2001. Reproductive biology of tunas. In B.A. Block and E.D. Stevens (editors), *Fish Physiology*, Vol. 19, Tuna: Physiology, Ecology, and Evolution, Academic Press, San Diego: 225-270.
- Scholey, V.P. 1993. Effects of temperature and food concentration on growth and survival of late-larval and early-juvenile black skipjack, *Euthynnus lineatus*. Masters Thesis, University of Washington, Seattle, Washington: 54 pp.

- Scholey, V.P. 1997. Construction and operation of a laboratory or aquaculture facility in a developing country. *Rev. Fish. Sci.* 5: 279-302.
- Shepherd, J.G. and D.H. Cushing. 1980. A mechanism for density-dependent survival of larval fish as the basis of a stock-recruitment relationship. *J. Conseil. International pour Explor. de la Mer* 185: 255-267.
- Takagi, M., S. Chow, T. Okamura, V.P. Scholey, A. Nakazawa, D. Margulies, J.B. Wexler, and N. Taniguchi. 2003. Mendelian inheritance and variation of four microsatellite DNA markers in the yellowfin tuna *Thunnus albacares*. *Fish. Sci.* 69: 1306-1308.
- Tamura, T. and W.J. Wisby. 1963. The visual sense of pelagic fishes especially the visual axis and accommodation. *Bull. Mar. Sci.* 13: 433-448.
- Tanaka, M., T. Kaji, Y. Nakamura, and Y. Takahashi. 1996. Developmental strategy of scombrid larvae: high growth potential related to food habits and precocious digestive system development. *In* Y. Watanabe, Y. Yamashita, and Y. Oozeki (editors), *Survival Strategies in Early Life Stages of Marine Resources*, A.A. Balkema, Rotterdam: 125-139.
- 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.
- 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: 52-91.
- Wexler, J.B., V.P. Scholey, R.J. Olson, D. Margulies, A. Nakazawa, and J.M. Suter. 2003. Tank culture of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*: developing a spawning population for research purposes. *Aquaculture* 220: 327-353.
- Wexler, J.B., S. Chow, T. Wakabayashi, K. Nohara, and D. Margulies. 2007. Temporal variation in growth of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) larvae in the Panama Bight, 1990-97. *Fish. Bull.* 105: 1-18.
- Wild, A. 1986. Growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean based on otolith increments. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull.* 18: 421-482.

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
8604 La Jolla Shores Drive
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.
www.iattc.org

