

VALIDACIÓN DE LA FORMACIÓN DE MARCAS DIARIAS EN LOS OTOLITOS SAGITTA DE LARVAS DE 0 A 3 DÍAS DE *SARDINELLA AURITA* VALENCIENNES, 1847 (PISCES: CLUPEIDAE) DEL SUR DE LA ISLA DE CUBAGUA, VENEZUELA.

MARÍA ALEJANDRA BALZA¹ & BAUMAR MARÍN²

¹*Departamento de Biología. Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela. malebalza@yahoo.com*

²*Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.*

RESUMEN: En el presente estudio se evaluaron los cambios diarios en la microestructura de los otolitos sagitta de larvas de *Sardinella aurita*. Para ello, se recolectaron muestras de ictioplancton al sur de la isla de Cubagua, desde mayo de 1998 a octubre de 1999. A partir de los embriones se desarrollaron 436 larvas de *S. aurita* de edades comprendidas entre 0-3 días de vida con una margen de talla de 3,77 - 4,22 mm LS. A un total de 50 larvas representantes de 0 a 3 días les fueron extraídos los otolitos según el método de SECOR *et al.* (1992) y se evaluaron con un analizador de imágenes adaptado a un microscopio óptico. En los otolitos se observó una frecuencia de formación diaria de los incrementos por el método de cría de la larva, la cual se representa a través de la ecuación N° de anillos = 0,9E edad + 0,3379 (n = 30; r² = 0,833, p < 0,001). Los otolitos de estas larvas midieron en promedio un diámetro de 18,39 μ m en larvas de Edad I, de 18,14 μ m para larvas de Edad II y de 22,48 μ m en las de Edad III. La validación de la formación de los incrementos de crecimiento diario en esta especie de tanta importancia económica es una herramienta necesaria para estimar la edad de los stock.

Palabras claves: Otolitos, incrementos, sardina, larvas.

ABSTRACT: This study assessed the daily changes in the microstructure of the sagitta otoliths in larval specimens of *Sardinella aurita*. Validating the daily growth increments in the otoliths, the first calcified tissues formed during embryogenesis, is used for estimating the age of fish. Samples of ichthyoplankton were collected to the south of Cubagua Island from May 1998 to October 1999. The otoliths from 50 larvae aged between zero and three days after hatching, and measuring between 3.77 and 4.22 mm SL were extracted according to the method of Secor *et al.* (1992) and assessed with an image analyzer attached to an optical microscope. The daily formation frequency of the otoliths was represented by the equation No. of rings = 0.9E age + 0.3379 (n = 30; r² = 0.833; p < 0.001). The otoliths reached a mean diameter of 18.39, 18.14, and 22.48 μ m for larval stages I, II, and III, respectively. Validation of daily otolith growth in this species of such economic significance is a necessary tool for stock assessment.

Key words: Otoliths, increments, sardines, larvae.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las poblaciones de engraulidos y clupeidos han experimentado grandes fluctuaciones en algunas de sus especies, lo cual ha ocasionado una tendencia en la caída de la producción a comienzos de los 90 (F.A.O. 1995). Por tanto, debido a la importancia de las pesquerías de sardina en áreas de África occidental (Senegal, Gambia y Mauritania) y Suramérica oriental (Brasil y Venezuela), se estimularon una cantidad apreciable de estudios sobre el ciclo de vida de *Sardinella aurita*, principal representante de los clupeidos en dichas

áreas. Estos estudios se han realizado con el fin de estimar la población pesquera y sus variaciones, para un óptimo aprovechamiento de las poblaciones explotadas (MENDOZA *et al.* 1998).

En Venezuela, se han desarrollado proyectos tendientes a conocer el grado de estructuración de las poblaciones de sardina, haciéndose necesario aplicar métodos que permitan calcular el crecimiento, índices de mortalidad, edad de reclutamiento, primera madurez, así como la composición por edades de la población. Para la determinación de la edad, se han empleado varios métodos, entre ellos, el

recuento de las marcas de crecimiento en los tejidos calcificados ha sido el favorito de los investigadores, pudiéndose observar un aumento de las investigaciones de edad en los otolitos en un 150% desde 1970 al 2000 (CAMPANA & THORROLD, 2001).

Los otolitos son los primeros tejidos calcificados que se forman durante la embriogénesis, siendo una estructura que registra constantemente los eventos diarios en los estadios larvarios y los eventos anuales durante toda la vida del pez (MORALES-NIN, 1987). La lectura del incremento diario en los otolitos fue desarrollada a comienzos de los 70 por PANNELLA (1971) y ha ganado amplia aceptación durante los últimos 35 años, al permitir la determinación de la biocronología de los peces tanto marinos como dulceacuícolas (CAMPANA & THORROLD, 2001).

Algunos autores han realizado estudios de crecimiento de *S. aurita* en laboratorio para larvas tempranas (BALZA *et al.* 2001), postlarvas (DITTY *et al.* 1994), y en larvas silvestres (DITTY *et al.* 1994; DULCIC, 1998; RAMÍREZ, 2002; BALZA, 2004) en diferentes localidades geográficas de la distribución de esta especie. En algunos de estos trabajos han empleado los conteos de las marcas de crecimiento asumiendo que las mismas se forman diariamente, lográndose un buen ajuste con respecto a la función de crecimiento (DULCIC, 1998; THORROLD & WILLIAMS, 1989). Sin embargo, para clupeidos algunos autores han encontrado diferencias en la formación de la primera marca, siendo reportada la formación de anillos previos a la eclosión como en *Clupea harengus* (GEFFEN, 1982; LOUGH *et al.* 1982; MCGURK, 1984), en *S. aurita* la formación ocurre en el momento de la eclosión (BALZA & MARÍN, 2000) y en *Engraulis mordax* (BROTHERS *et al.* 1976) y *Sardinops sagax* (BUTLER & ROJAS, 1985) el primer anillo se forma entre 4 y 5 días posteriores a la eclosión cuando comienza la alimentación exógena.

Por consiguiente, la validación de la edad es la demostración de que los conteos de los incrementos de crecimiento periódico pueden ser utilizados para determinar la edad del pez y representa la principal premisa en el establecimiento de un control de calidad para los estudios de edad en peces, tal como sugiere CAMPANA (2001). No obstante, a pesar de la importancia económica de *S. aurita* no se ha validado la periodicidad en la formación de las marcas de crecimiento diario en sus otolitos, siendo indispensable esta validación para la utilización de la información de edad y crecimiento (BEAMISH &

McFARLAND, 1983; IGLESIAS *et al.* 1997). Dado lo anterior, en el presente estudio se realizaron ensayos para el análisis microestructural en los otolitos sagitta de larvas de *S. aurita*, para confirmar dicha validación. Esto servirá de soporte para un mejor entendimiento del ciclo de vida de esta especie, sobre todo por la problemática de la sardina venezolana en la actualidad y la magnitud de su pesquería en el nororiente de Venezuela. La prioridad de estos estudios es evidente ante los antecedentes en las pesquerías de pequeños pelágicos, las cuales han sufrido catástrofes económicas, como la ocurrida en las costas de California en los años 60 con la pesca de la sardina, en el Perú en los años 70 con la pesca de la anchoveta, la cual produjo desabastecimiento mundial de la harina de pescado, y la del arenque del Mar del Norte que prácticamente ha desaparecido en los últimos 25 años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se colectaron muestras de ictioplancton al sur de la isla de Cubagua, Venezuela (10° 46' 16" Lat. N y 64° 10' 49" Long. W), durante los meses de mayo de 1998 hasta enero de 1999. La colecta de los huevos se realizó con el empleo de una red para ictioplancton con abertura de malla de 555 mm y diámetro de boca de 50 cm. Los arrastres de veinte minutos se realizaron entre los diez y cinco metros de profundidad y a una velocidad de dos nudos aproximadamente.

La separación de los huevos desarrollados se realizó según los patrones descritos por SIMPSON & GONZÁLEZ (1967) y GUTIÉRREZ *et al.* (2002). Se extrajeron huevos en estadios avanzados de desarrollo (estadios VI y VII, según GUTIÉRREZ *et al.* 2002), con aproximadamente 6 horas desde el tiempo más probable de desove (SIMPSON & GONZÁLEZ, 1967; RODRÍGUEZ, 1988).

Los embriones se mantuvieron vivos por tres días posteriores a la eclosión a una temperatura ambiente de 27°C (± 1). Adicionalmente, se hicieron extracciones diarias en estos tres días de grupos de diez larvas y se fijaron en etanol al 95% para la posterior evaluación de los otolitos. La extracción de los otolitos sagitta se hizo según la metodología descrita por SECOR *et al.* (1992). La larva se colocó en una lámina portaobjeto con una gota de agua para evitar la resequeidad cuando se evapora el alcohol. Seguidamente se posicionó en la platina entre los lentes de luz polarizante a la zona del objetivo de la lupa. Esto permitió observar los otolitos como dos puntos blancos

brillantes (refringentes), utilizando luz transmitida. Una vez localizados los otolitos en la cápsula ótica, se procedió a su extracción con pinzas y agujas de disección lacerando la cápsula. El par de otolitos fueron fijados en bálsamo de Canadá a láminas de portaobjetos y se observaron bajo diferentes magnitudes de aumento utilizando un microscopio Zeiss modelo 872 E. Se empleó un sistema de análisis de imágenes para medir y fotografiar los otolitos sagitta. La medición de incrementos o anillos de crecimiento diario se realizó con el programa Sigma Scan Pro (Jandel Scientific, INC) y se utilizó un micrómetro digital ensamblado al sistema de análisis de imágenes adaptado al microscopio. Los incrementos diarios y la anchura de los mismos en cada otolito preparado se observaron con aumentos de 40X y 100X.

Para establecer la edad y la frecuencia de formación de incrementos se contó el número de incrementos formados en los otolitos de las larvas de edad conocida (PARRISH *et al.* 1994; IGLESIAS *et al.* 1997). La edad de las larvas se estableció en horas, a partir de la eclosión, definiendo así a las larvas recién eclosionadas como las de Edad 0, las de 24 horas como la Edad I, las de 48 horas como la Edad II y las de 72 horas como Edad III.

Se realizó un análisis de regresión para establecer el ajuste de los datos a una curva de crecimiento, utilizando el número de incrementos por días transcurridos en las larvas, y pruebas estadísticas t-student para datos pareados entre grupos de edades ($\alpha = 0,05$; SOKAL & ROHLF, 1981).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los otolitos examinados se observó una formación de incrementos o anillos de crecimiento diario en larvas de *S. aurita* de 0-3 días, mantenidas vivas en condiciones de laboratorio (Fig. 1). Los mismos presentaron la transparencia suficiente como para observar los incrementos diarios de crecimiento. Las mediciones de los diámetro promedio de los otolitos mostraron valores de $18,39 (\pm 2,30) \mu\text{m}$ para el primer día, y $22,48 (\pm 5,74) \mu\text{m}$ para el tercer día.

Los otolitos presentaron un número de incrementos o anillos de crecimiento de acuerdo al número de días correspondientes a su edad. La figura 2 exhibe la tendencia lineal de la relación presentada por el número de anillos y la edad expresada en días de vida de la larva, a través de la

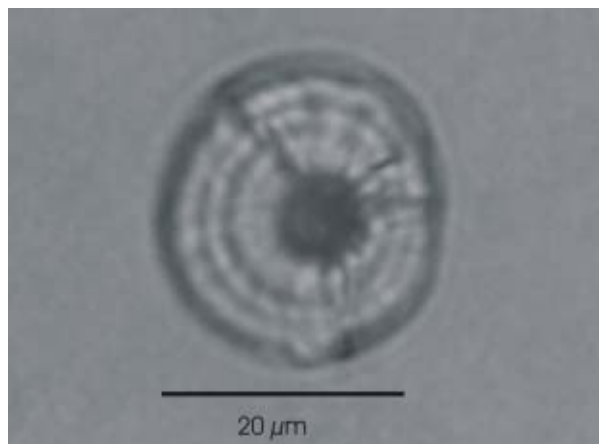


Fig. 1.- Fotografía de un otolito sagitta de *S. aurita* de 3 días mostrando los incrementos diarios de crecimiento.

ecuación: $N^{\circ} \text{ de anillos} = 0,9 E + 0,34$ ($n = 30$ $r^2 = 0,83$ $p < 0,001$), donde E es la edad en días. Durante este periodo las larvas reabsorbieron el saco vitelino, no habiendo sido expuestas a la presencia de alimento. La presencia de una marca clara de eclosión se observó ya en larvas eclosionadas. En pocos ejemplares se observó más de una línea después de la eclosión. Asimismo, no se observaron cambios de forma en los tres días de observación en los otolitos extraídos, permaneciendo ovoide durante este tiempo. (Fig. 1) Tampoco hubo evidencias de formación de líneas o incrementos previos al evento de eclosión.

La formación de incrementos diarios ha sido aceptada como el resultado de un ciclo circadiano endógeno y la presencia de éste ocurre sin la conducción del fotoperíodo, pero sí, por otros factores ambientales (MUGIYA *et al.* 1981;

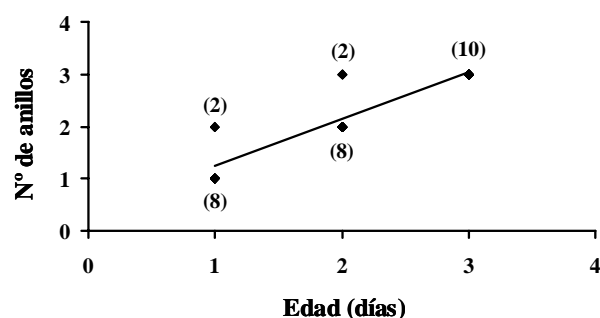


Fig. 2.- Relación entre el número de anillos de crecimiento diario en los otolitos sagitta de larvas de *Sardinella aurita* de 1-3 días de vida y su edad en días

STEVENSON & CAMPANA, 1992; ARMSTRONG *et al.* 2004). Para la validación de los incrementos en los otolitos sagitta de *S. aurita* se utilizaron dos métodos directos diferentes como son el mantener vivas a las larva durante un corto periodo de tiempo y conteo de los anillos de crecimiento diario, que garantizan una mayor certeza de los resultados, en contraste con otros métodos indirectos, como el seguimiento de la edad en cohortes naturales, como ha sido utilizado en engraulidos (STRUHSAKER & UCHIYAMA, 1976), carángidos (JORDAN, 1994) y mugílidos (MARÍN *et al.* 2003).

El establecimiento de la formación de una primera marca de eclosión y posterior corroboración de las líneas iniciales de los primeros días de vida, ha sido utilizado en varias especies de peces en su etapa prolarvaria como son el caso de *Sardinops sagax* (CASTILLO *et al.* 1985; BUTLER & ROJAS, 1985) y *Sardina pilchardus* (ALEMANY & ALVAREZ, 1994). En este estudio se observaron líneas de crecimiento delgadas en comparación con las observadas en especímenes silvestres de la misma especie (RAMÍREZ, 2002; BALZA, 2004), lo que puede deberse a las condiciones estresantes de laboratorio en las cuales se mantuvieron las larvas (cambios diarios de agua y ausencia de nutrientes y alimento). Lo anterior es debido a que, algunos factores como el nivel de alimentación, periodicidad de la alimentación, tamaño del recipiente de cría y la temperatura pueden influir en la periodicidad de los incrementos y en el grosor de los mismos (GEFFEN, 1982; ALHOSSAINI & PITCHER, 1988), de allí la importancia de las condiciones bajo las cuales se realizan los estudios de validación. En muy pocos otolitos de larvas la incidencia de una línea adicional en la enumeración puede ser causa de la disparidad en los tiempos de eclosión. Esta disparidad puede ocurrir por la incidencia de algunos individuos de edad más avanzada por un desarrollo embrionario más adelantado al momento de captura, dado a desoves extendidos en *S. aurita* (SIMPSON & GONZÁLEZ, 1967). Así, el comienzo de la formación de un anillo adicional puede

presentar en los lectores cierta incertidumbre al considerar la presencia de otro anillo.

Sin embargo, los resultados en estudios de validación de laboratorio pueden no ser idénticos para peces silvestres, dado a que las condiciones de campo pueden fluctuar a tal grado que ocasionen discontinuidad en los incrementos (JONES, 1986). Aún así, es conveniente cotejar los resultados bajo condiciones de laboratorio y de campo en trabajos de validación de la periodicidad de los incrementos en los otolitos (JONES, 1986; WRIGHT & HUNTINGFORD, 1993).

Algunos autores, utilizando larvas silvestres de edad temprana, han observado un decrecimiento en las tallas entre el segundo y tercer día (DULCIC, 1998). En los ensayos de laboratorio realizados en el presente estudio también se determinó esta tendencia, habiendo sido discutido en BALZA *et al.* (2001), y ha sido referenciado en algunas otras especies exóticas como *Dischitius capensis* (VAN DER LINGEN, 1994) y locales como el coro-coro rayao, *Haemulon bonariense* (CUARTAS *et al.* 2003) y el tinicalo, *Xenomelaniris brasiliensis* (DEL RÍO, 2004).

La necesidad de corroboración de la periodicidad de los incrementos, obedece a que en algunas especies se ha encontrado que los mismos no se forman diariamente o presentan retardo en la formación en los estadios tempranos (CAMPANA & NEILSON, 1985). Además los incrementos pueden no ser fácilmente discernibles (CAMPANA *et al.* 1987; MORALES-NIN, 1987), tal como ocurre en *Sardinella aurita*, donde se observaron extremadamente delgados (TABLA 1) y solo fueron visibles con un máximo aumento del microscopio óptico (100X). De lo anterior se puede concluir que los otolitos sagitta de larvas de *S. aurita* presentaron la marca distintiva del día de eclosión y que la formación de los anillos de crecimiento ocurre diariamente en los mismos.

TABLA 1. Mediciones (en μm) del diámetro del otolito sagitta de larvas de *Sardinella aurita* de edades 0-3 días.

	Edad 0	Edad I	Edad II	Edad III
\bar{X}	14,28	18,39	18,14	22,48
D.S.	1,38	3,71	6,52	7,18
I.C.	1,11	2,30	7,38	5,74
n	30	10	10	10

\bar{X} = Promedio, D.S.= Desviación estándar, I.C.= Intervalo de confianza, n = Número de individuos

AGRADECIMIENTO

Los autores queremos agradecer a quienes hicieron posible la realización de este trabajo, en especial a CARLOS MORENO, LUIS ORTEGA, ALEXANDER BARRIOS, JESÚS CARDIE y MERCELYS GUTIÉRREZ por las colecta de ictioplancton. A CÉSAR LODEIROS, LINA CHARZEDDINE, MARÍA VERÓNICA HERNÁNDEZ y CÉSAR GRAZZIANI por toda la colaboración suministrada para los desarrollos embrionarios de las larvas.

REFERENCIAS

- ARMSTRONG, J., P. FALLON-COUSINS & P. WRIGHT. 2004. The relationship between specific dynamic action and otolith growth in pike. *J. Fish. Biol.* 64: 739-749.
- ALEMANY, F. & F. ALVAREZ. 1994. Formation of initial daily increments in sagittal otoliths of reared and wild *Sardina pilchardus* yolk-sac larvae. *Mar. Biol.* 121: 35-39.
- ALHOSSAINI, M. & T. PITCHER. 1988. The relation between daily rings, body growth and environmental factors in plaice, *Pleuronectes platessa* L., juvenile otoliths. *J. Fish. Biol.* 33: 409-418.
- BALZA, M. 2004. *Crecimiento somático y relación ARN/ADN en larvas y juveniles de la sardina Sardinella aurita Valenciennes, 1847 (Pisces: Clupeidae) del oriente venezolano*. Trab. Grad. M. Sc. Biología Aplicada. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 62 pp.
- _____, M. GUTIÉRREZ & B. MARÍN. 2001. Descripción morfológica y crecimiento en los primeros estadios larvarios de la sardina *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) (Pisces: Clupeidae). *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela*. 40: 91-101.
- _____. & B. MARÍN. 2000. Verificación de la marca de eclosión en los otolitos de larvas de *Sardinella aurita* (Pisces: Clupeidae). *Rev. Biol. Trop.* 48: 183-186.
- BEAMISH, R. & G. MCFARLAND. 1983. The forgotten requirement for age validation in fisheries biology. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112: 735-743.
- BROTHERS, E., C. MATHEWS & R. LASKER. 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fish. Bull.* 74: 1-8.
- BUTLER, J. & B. ROJAS. 1985. Growth of larval sardines off Peru. *CalCOFI Rep.* 26:113-117.
- CAMPANA, S. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish. Biol.* 59: 197-242.
- _____, J. GAGNE & J. MUNRO. 1987. Otolith microstructure of larval herring (*Clupea harengus*): Imagen or reality?. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 1922-1929.
- _____. & J. NEILSON. 1985. Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variables in their production. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 117: 1-126.
- _____. & S. THORROLD. 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understating of fish populations? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 30-38.
- CASTILLO, G.; E. AGUILERA, G. HERRERA, P. BERNAL, J. BUTLER, J. CHONG, H. GONZÁLEZ, C. OYRAZUN & C. VELOSO. 1985. Larval growth rate of the Pacific sardine *Sardinops sagax* off central Chile, determined by daily ring counts in otoliths. *Biol. Pesq.* 14: 3-10.
- CUARTAS, A., J. ROSAS, A. VELÁSQUEZ & T. CABRERA. 2003. Inducción al desove, desarrollo embrionario y larval del corocoro rayao *Haemulon bonariense* Cuvier, 1830 (Pisces: Haemulidae). *Rev. Biol. Mar Oceanog.* 38: 27-37.
- DEL RIO, V. 2004. *Desarrollo embrionario, punto de no retorno y tiempo de metamorfosis en el tinicalo, Xenomelaniris brasiliensis (Quoy y Gaimard) (Pisces: Atherinidae)*. Trab. Grad. Lic. Biología Marina, Universidad de Oriente, Boca de Río, Venezuela, 84 pp.
- DITTY, J., E. HOUDE & R. SHAW. 1994. Egg and larval development of spanish sardine, *Sardinella aurita* (Family Clupeidae), with a synopsis of characters to identify clupeid larvae from the northern Gulf of Mexico. *Bull. Mar. Sci.* 54: 367-380.
- DULCIC, J. 1998. Growth parameters of round sardinella *Sardinella aurita* Valenciennes, 1847 larvae in the Adriatic Sea estimated from otolith growth rings. *Falco* 82: 53-56.
- F.A.O. 1995. *Producción Pesquera Mundial 1950-1993*. Suplemento del volumen 76 del Anuario Estadístico de Pesca 1993. Capturas y desembarques de la F.A.O. Roma, Italia. 44 pp.

- GEFFEN, A. 1982. Otolith ring deposition to growth rate in herring (*Clupea harengus*) and (*Scophthalmus maximus*) larvae. *Mar. Biol.* 71: 317-326.
- GUTIÉRREZ, M., M. BALZA & B. MARÍN. 2002. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario de la sardina *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) (Pisces: Clupeidae) en condiciones de laboratorio. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela* 41: 67-72.
- IGLESIAS, M., E. BROTHERS & B. MORALES-NIN. 1997. Validation of daily increment deposition in otoliths. Age and growth determination of *Aphia minuta* (Pisces: Gobiidae) from the northwest Mediterranean. *Mar. Biol.* 129: 279-287.
- JONES, G. 1986. Determining age of larvae fish with the otolith increment technique. *Fish. Bull.* 84: 91-103.
- JORDAN, A. 1994. Age, growth and back-calculate birthdate distributions of larval jack mackarel, *Trachurus declivis* (Pisces: Carangidae), from eastern Tasmanian coastal waters. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 45:19-33.
- LOUGH, R., M. PENNINGTON, G. BOLZ & A. ROSENBERG. 1982. Age and growth of larval Atlantic herring, *Clupea harengus* L. in the Gulf of Maine-Georges Bank region based on otolith growth increments. *Fish. Bull.* 80: 187-199.
- MARÍN, B., A. QUINTERO, D. BUSSIERE & J. DODSON. 2003. Reproduction and recruitment of white mullet (*Mugil curema*) to a tropical lagoon (Margarita Island, Venezuela) as revealed by otolith microstructure. *Fish. Bull.* 101: 802-821.
- MC GURK, M. 1984. Ring deposition in the otoliths of larval pacific herring *Clupea harengus pallasi*. *Fish. Bull.* 82: 113-120.
- MENDOZA, F., P. FREÓN, R. GUZMÁN & R. APARICIO. 1998. *Sardinella aurita* Population Dynamics Related to Environmental Parameters in the Southern Caribbean (Venezuela). In: *Global versus Local Changes in Upwelling Systems*. Eds. Durand, M., P. Cury, R. Mendelssohn, C. Roy, A. Bakun & D. Pauly. I'Orstom, Paris, France. 295-309.
- MORALES-NIN, B. 1987. Métodos de determinación de la edad de los osteictios en base a estructuras de crecimiento. *Inf. Tecn. Inv. Pesq.* 143: 3-30.
- MUGIYA, Y., N. WATWBE, J. YAMADA, D. DUNKELBERGER & M. SHIMIZU. 1981. Diurnal rhythm in otolith formation in the goldfish, *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 68: 659-662.
- PANNELLA, G. 1971. Fish otoliths, daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173: 1124-1127.
- PARRISH, D., B. VONDRACEK & W. ECKMAYER. 1994. Accuracy and precision of daily age estimates for walleyes from Ohio hatcheries and Lake Erie. *Trans. Am. Fish. Soc.* 601-605.
- RAMÍREZ, T. 2002. *Edad y crecimiento en larvas silvestres de Sardinella aurita Valenciennes, 1847 del nororiente de Venezuela, mediante el análisis de sus otolitos*. Trab. Asc. Prof. Agregado. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 68 pp.
- RODRÍGUEZ, J. 1988. *Estudios de las áreas más importantes de desove y algunos aspectos reproductivos de la sardina Sardinella aurita Valenciennes, 1847 (Pisces: Clupeidae) en la zona nororiental de Venezuela*. Informe semestral N° 1 presentado al CONICIT. 18pp.
- SECOR, D., J. DEAN & E. LABAN. 1992. Otolith removal and preparation for microstructural examination. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117: 19-57.
- SIMPSON, J. & G. GONZÁLEZ. 1967. Algunos aspectos de las primeras etapas de vida y medio ambiente de la sardina (*Sardinella anchovia*) en el oriente de Venezuela. *Ser. Rec. Exp. Pesq. M.A.C.* 1 (2): 1-93.
- SOKAL, R. & F. ROHLF. 1981. *Introducción a la bioestadística*. Ed. Reverté, S.A. Barcelona, España, 361 pp.
- STEVENSON, D. & S. CAMPANA. 1992. Otolith microstructure examination and análisis. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117: 1-126.
- STRUHSAKER, P. & J. UCHIYAMA. 1976. Age and growth of the nehū, *Stolephorus purpureus* (Pisces: Engraulidae), from the Hawaiian islands as indicated by daily growth increments of sagittae. *Fish. Bull.* 74: 9-17.

- THORROLD, R. & D. WILLIAMS. 1989. Analysis of otolith microstructure to determine growth histories in larval cohorts of a tropical herring (*Herklotsichthys castelnaui*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 1615-1624.
- WRIGHT, P. & F. HUNTINGFORD. 1993. Daily growth increments in the otoliths of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *J. Fish Biol.* 42: 65-77.
- VAN DER LINGEN, C. 1994. Aspects of the early life history of galjoen *Dischistius capensis*. *S. Afr. J. mar. Sci.* 14: 37-45.

RECIBIDO: Octubre 2006

ACEPTADO: Noviembre 2006