

2022

Informe de
INVESTIGACIÓN

xx-22

NO-2022-66786544-APN-DNI#INIDEP
ACEPTADO 24/06/22

**Condición nutricional, crecimiento y posición trófica de
larvas de *Engraulis anchoita* en la Zona Común de Pesca
Argentino-Uruguay (ZCPAU) en diciembre 2019**

Marina Do Souto, Daniel R Brown, David E Galván, Marina V Diaz



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PESQUERO



Condición nutricional, crecimiento y posición trófica de larvas de *Engraulis anchoita* en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay (ZCPAU) en diciembre 2019

Marina Do Souto^{1,2}, Daniel R Brown¹, David E Galván³, Marina V Diaz^{1,2}

¹ Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Paseo Victoria Ocampo Nro1, B7602HSA, Mar del Plata, Buenos Aires

² Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rodríguez Peña 4046 Nivel I.

³ Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR), Centro Nacional Patagónico (CENPAT), Centro Científico Tecnológico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Resumen

Engraulis anchoita es una de las especies pelágicas de mayor importancia ecológica en el Mar Argentino ya que transfiere la energía desde el zooplancton a peces depredadores, aves y mamíferos marinos. En este trabajo el objetivo principal fue evaluar diferentes aspectos de la historia de vida de las larvas de *E. anchoita* obtenidas en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay (ZCPAU) en diciembre 2019 (Campaña Ambiental-CTM y Programa DiPlaMCC del INIDEP), en relación con la ontogenia de las larvas y a la estratificación de la columna de agua. Se analizaron variaciones en la condición nutricional (índice ARN/ADN), en el crecimiento (reciente y diario) y en la posición trófica larval considerando estaciones de aguas de tipo estratificada y homogénea. Los índices de crecimiento y de condición nutricional respondieron a la ontogenia y a la estratificación del agua, siendo mayores sus valores a mayor tamaño larval, mientras que el crecimiento fue mayor en las estaciones con aguas de estructura estratificada. En el caso de la condición nutricional, no presentó una tendencia tan evidente respecto de la estructura del agua en el caso de estaciones estratificadas y homogéneas. En el caso específico de las aguas estratificadas, la termoclina fue el estrato con mayores valores de ambos índices. Por otro lado, la posición trófica también varió, observándose una tendencia de las larvas a una condición omnívora en aguas de tipo estratificadas, y a una carnívora en aguas con estructura homogénea. A pesar de ser una especie de conocida plasticidad frente a cambios ambientales, dado que los resultados indican que la supervivencia larval fue afectada por las condiciones oceanográficas, se propone que esta especie podría ser sensible a alteraciones antrópicas tales como el cambio climático.

Palabras Clave

Engraulis anchoita, ictioplancton, condición nutricional, crecimiento, isótopos estables, EPEA, COSTALes

Introducción

La anchoíta argentina, *Engraulis anchoita* (Hubbs y Marini, 1935) es una especie pelágica pequeña caracterizada por presentar altas densidades poblacionales y amplia distribución. Representa el recurso potencial de mayor biomasa en aguas litorales del Atlántico Sudoccidental y es una de las especies pelágicas de mayor importancia ecológica del Mar Argentino (Angelescu, 1982; Hansen et al., 2001). Se pueden distinguir dos poblaciones o *stocks* de esta especie en Argentina: 1) el *stock* bonaerense o norte, situado al norte de los 41° S y 2) el *stock* patagónico o sur localizado entre los 41° S y 48° S (Sánchez, 1995). Las áreas de mayor desove y cría de larvas de *E. anchoita* se localizan en regiones asociadas a frentes hidrográficos, como los estuariales, de marea y talud continental (Pájaro et al., 2008). La presencia de áreas frontales genera regiones con altas concentraciones de fitoplancton (Carreto, et al., 1981b; Lutz y Carreto, 1991; Negri et al., 1992) que provocan un aumento en cadena de la comunidad zooplanctónica, del ictioplancton y del necton (Largier, 1993; Mann y Lazier, 1996), resultando así en áreas con una gran riqueza ictícola (Bertolotti et al., 1996; Boschi, 1997). La actividad reproductiva del *stock* bonaerense comienza en el mes de septiembre en sentido norte-sur y presenta un máximo entre los meses de octubre y noviembre, aunque se pueden encontrar huevos y larvas en el plancton durante todo el año (Ciechomski y Weiss, 1974). A su vez, el desove se asocia a dos grandes áreas frontales: el estuario del Río de la Plata y la región de El Rincón (Figura 1). El primero, que incluye a la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay (ZCPAU), se caracteriza por ser extenso y poco profundo, con una fuerte estratificación vertical causada por diferencias de salinidad y temperatura (Guerrero et al., 1997; Acha et al., 2004; Pájaro et al., 2008).

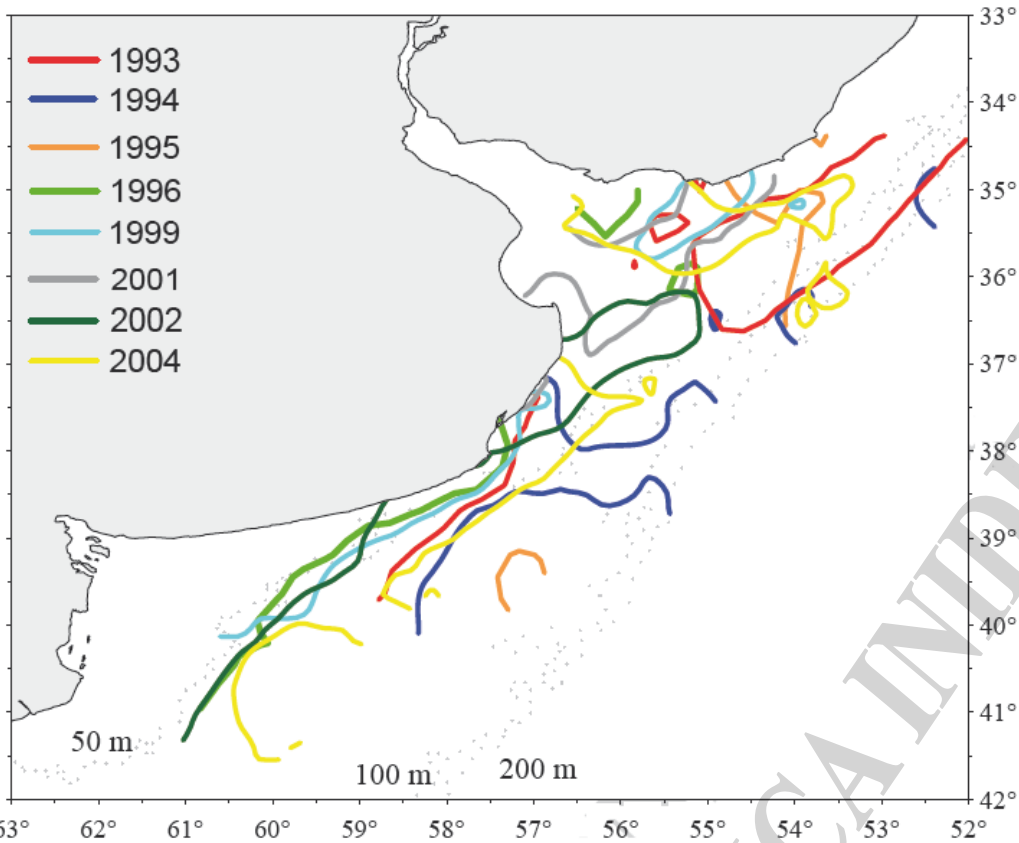


Figura 1. Posición del frente térmico en el área bonaerense entre los meses de octubre y noviembre en el período 1993-2004. Figura obtenida de: Pájaro et al. (2008).

La dinámica de las poblaciones de peces clupeiformes como la anchoíta se ve afectada con frecuencia por las variaciones ambientales. Según Houde (2008), los factores que afectan la supervivencia de las larvas pueden ser tanto físicos (por ejemplo, temperatura, salinidad, corrientes) como trofodinámicos (inanición y depredación). La incidencia de tales factores en la mortalidad de larvas de peces puede afectar el éxito de una cohorte (Hjort, 1926; Houde, 2008). Edwards y Richardson (2004) indicaron que los ambientes marinos templados son particularmente vulnerables al cambio climático debido a su dependencia de la sincronización entre el desarrollo de los distintos organismos, desde el fitoplancton hasta los productores secundarios. Con respecto a *E. anchoíta*, existen evidencias de una relación entre la coordinación de la producción primaria y la condición nutricional larval (Diaz et al., 2018). Cambios en las dinámicas de los frentes de carácter estacional causados por el cambio climático podrían llevar a una descoordinación espacial y/o temporal entre los requerimientos de larvas y su alimento potencial, lo que implicaría un impacto en las historias de vida de las larvas. Este fenómeno, basándose en las teorías hoy aceptadas de reclutamiento (Hjort, 1914; Houde, 2008) generaría una disminución de individuos que alcancen la adultez, y así un efecto que podría propagarse a todo el ecosistema. Esto se debe a que *E. anchoíta*, es lo que se conoce como especie forrajera que transfiere energía del plancton a peces depredadores más grandes, aves marinas y mamíferos marinos de la red trófica, con un sistema de regulación de "cintura de avispa" (Angelescu, 1982; Hansen et al., 2001; Bakun, 2006). A su vez, estos efectos podrían ser potenciados por la influencia antrópica en caso de que en el futuro se ejerciera un mayor esfuerzo pesquero sobre esta especie. Actualmente, la pesquería de esta especie se concentra sobre el stock bonaerense y se lo considera subexplotado (Orlando et al., 2019; Ciancio et al., 2020). Dadas las variaciones interanuales observadas en la biomasa de esta especie en las últimas décadas (Buratti et al., 2020), el estudio de ciertos rasgos de vida como el crecimiento, la condición nutricional y la posición trófica larval de *E. anchoíta* resultan relevantes para la comprensión integral de su reclutamiento. Además, resulta relevante para poder prever futuros escenarios debidos a cambios en la explotación comercial, así como a variaciones ambientales.



La biología pesquera clásica propone que el éxito de una clase anual está principalmente determinado durante la ontogenia temprana de los peces (Hjort, 1914). El crecimiento rápido es beneficioso para la supervivencia larval, ya que las probabilidades de mortalidad por depredación disminuyen al adquirir tamaños más grandes en menos tiempo (Leggett y DeBlois, 1994). La metodología más común para estudiar la edad y el crecimiento es el análisis de la microestructura del otolito. Esta técnica permite la determinación de la edad y la reconstrucción diaria de las tasas de crecimiento (Campana, 1992; Baumann et al., 2003; Brown et al., 2013; Do Souto et al., 2019a). A su vez, el cálculo de la tasa de crecimiento larval de los últimos días refleja el estado fisiológico de la larva y se correlaciona con las condiciones ambientales a las que el organismo ha sido expuesto durante los últimos días de vida. El estado fisiológico larvario se puede analizar a través del índice ARN/ADN, que cuantifica el estado nutricional de los individuos como resultado de su interacción con el medio ambiente en una escala de tiempo corta. Mientras que la cantidad de ADN es virtualmente constante en las células somáticas, el ARN presente en los tejidos es directamente proporcional a la síntesis de proteínas (Clemmesen, 1994; Bailey et al., 1995; Diaz y Pájaro, 2013). Por lo tanto, un mayor índice de ARN/ADN implica una mayor síntesis de proteínas y en consecuencia una mejor condición nutricional (Clemmesen, 1994; Bailey et al., 1995). Mediante la complementación de ambas técnicas (análisis de la microestructura del otolito y del índice ARN/ADN), se han encontrado variaciones en el crecimiento y condición nutricional de larvas de *E. anchoita* de ambos *stocks* relacionadas con la ontogenia y con el ambiente, tanto espacial como estacionalmente, habiendo un mayor crecimiento y mejor condición nutricional en zonas frontales, y también en el área bonaerense, un mayor crecimiento y una mejor condición nutricional en las estaciones cálidas frente al invierno (Diaz et al., 2016; Do Souto et al., 2018; 2019a; 2019b).

Por otro lado, las variaciones en la posición trófica pueden indicar la plasticidad y capacidad de adaptación y desarrollo de las larvas en distintas condiciones ambientales. A través del análisis de contenidos intestinales, varios autores describieron que los estadios larvales de *E. anchoita* de hasta 38 mm de longitud estándar se alimentan de organismos pequeños, principalmente huevos de copépodos, *nauplii* y copépodos pequeños (Ciechomski, 1966; Ciechomski y Weiss, 1974; Sabatini, 2004; Sánchez y Manazza, 1994; Sato et al., 2011; Viñas y Ramírez, 1996). Sin embargo, los estudios tróficos en las larvas de anchoíta realizados por análisis de contenido intestinal han presentado dificultades metodológicas asociadas con la morfología intestinal (Ciechomski y Weiss, 1974), por lo que podría haber otros elementos del plancton que complementen la dieta larvaria. Diaz et al. (2016) analizaron en el *stock* patagónico de larvas de anchoíta la relación entre el índice de condición ARN/ADN y ciertas variables ambientales. En dicho trabajo, los autores observaron que aquellas larvas que habitaban un ambiente con muy bajas abundancias de *nauplii* presentaban una condición nutricional moderadamente buena, por lo que en ese caso se propuso que las larvas se alimentarían también de otros organismos. La asignación de la posición trófica dentro de las redes alimentarias acuáticas complejas se ha facilitado en los últimos años mediante el uso del análisis de isótopos estables (Peterson y Fry, 1987; Kling et al., 1992; France, 1995; Post, 2002). Las composiciones relativas de los isótopos estables de carbono y nitrógeno tienen el potencial de capturar interacciones complejas, incluida la alimentación omnívora y permiten rastrear el flujo de energía a través de las comunidades (Peterson y Fry, 1987; Kling et al., 1992; Cabana y Rasmussen, 1996). Esta técnica se utiliza actualmente en el estudio de larvas de peces para distinguir cambios en la posición trófica a lo largo de la ontogenia, para el análisis de la influencia materna, y para el estudio de la competencia entre larvas de varias especies (Pepin y Dower, 2007; Wan et al., 2010; Tanaka et al., 2016; García et al., 2017; Laiz-Carrión et al., 2019). A través de esta metodología, se analizó la posición trófica de las larvas de anchoíta bonaerense en una estación fija de muestreo durante un ciclo anual, y se observó una variación en el nivel trófico de las larvas respecto de otros organismos del plancton, el cual fue adjudicado al cambio estacional (Do Souto, 2020). En el otoño, las larvas presentaron una posición trófica más asociada con los hábitos omnívoros, mientras que las larvas obtenidas en las otras estaciones del año se encontraron en el tope de la trama trófica planctónica. Aun así, estos resultados sólo brindaron una primera aproximación a la temática, siendo necesario un mayor número de muestras y una ampliación del área de estudio para obtener una mejor comprensión de la posición trófica de las larvas de esta especie.

En el presente trabajo nuestro objetivo fue determinar y analizar en forma comparativa el crecimiento diario, la condición nutricional y la posición trófica de larvas de *E. anchoita* provenientes de la ZCPAU en diciembre de 2019 respecto a la distribución horizontal y vertical en la columna de agua. De esta forma, se pretende dar un estado de situación de las larvas del *stock* bonaerense para dicho año y contribuir con la base histórica de datos de la especie como monitoreo de la misma en el contexto de cambio climático actual.

Materiales y Métodos

Área de estudio

En el marco del Programa “Dinámica del Plancton Marino y Cambio Climático” (DiPlaMCC) del INIDEP se realizó una campaña de investigación con código VA1219 a bordo del BIP Víctor Angelescu desde el 4 hasta el 14 de diciembre de 2019, denominada “Salud ambiental y plancton en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya en un escenario de Cambio Global”. La misma fue analizada a través de tres secciones perpendiculares a la batimetría desde aguas costeras hasta atravesar el talud continental en dirección sudeste. La primera sección se ubicó en el sector argentino, a la latitud de Mar del Plata en su estación más costera (sección COSTAL I o COSTAL-AR); una segunda sección en el sector uruguayo, cuya estación más costera se encuentra cercana a La Paloma (COSTAL II o COSTAL-UY) y una tercera sección en la línea divisoria del Frente Marítimo, comenzando en su estación más costera dentro del Río de la Plata (sección Río de la Plata, RdP o COSTAL-RP). Adicionalmente, se realizó un muestreo en una estación costera próxima a Mar del Plata (Estación Permanente de Estudios Ambientales, EPEA), dando continuidad a una serie temporal existente desde hace más de 20 años en dicha posición. Allí, las variables estudiadas fueron las mismas detalladas para las otras estaciones generales (Figura 2, Tabla 1).

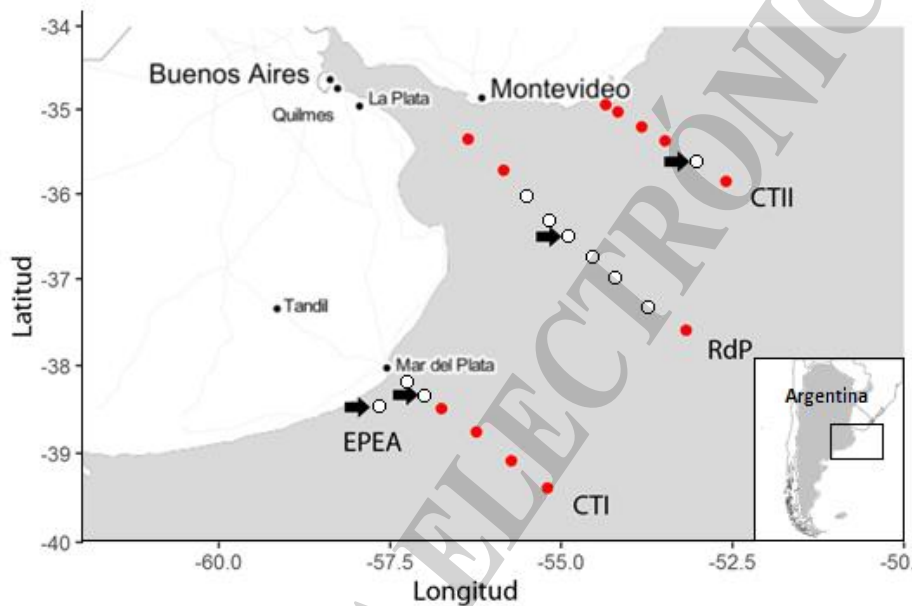


Figura 2. Mapa de la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya en el que se presentan las tres secciones: sección COSTAL-UY (CTII), COSTAL-RP (RdP) y COSTAL-AR (CTI) y la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA) con las estaciones de muestreo desarrolladas. Las estaciones blancas indican la posición en donde se colectaron larvas de *Engraulis anchoita*. Las flechas negras indican las estaciones con muestreo completo.

Tabla 1. Detalle del número de estación general (EG), número de larvas muestreado para el análisis de condición nutricional y crecimiento (N), código de transecta, código de estación, estratificación del agua, e índices realizados de condición nutricional (RDs), crecimiento e isótopos estables (IE) por cada estación.

EG	N	Transecta	Estación	Estratificación	RDs	Crecimiento	IE
928	14	CTII	CTII 5	Estratificado	Si	Si	Si

Condición nutricional, crecimiento y posición trófica de larvas de anchoíta en la ZCPAU



936	1	RdP	RdP7	Estratificado	Si	Si	No
937	7	RdP	RdP8	Homogéneo	Si	Si	No
938	29	RdP	RdP9	Homogéneo	Si	Si	Si
940	3	RdP	RdP11	Estratificado	Si	Si	No
941	1	RdP	RdP12	Estratificado	Si	Si	No
946	5	CTI	CTI 1	Estratificado	Si	Si	No
947	2	CTI	CTI 2	Homogéneo	Si	Si	Si
949	23	EPEA	EPEA	Homogéneo	Si	Si	Si

Colecta de muestras

En todas las estaciones generales se utilizó un CTD Seabird 911 con el cual se determinaron los perfiles de temperatura y salinidad del agua (Fenco et al., 2020), clasificando así a las estaciones en homogéneas (H) y estratificadas (E). En el caso de las estaciones estratificadas, se determinó a través del análisis de los perfiles verticales de temperatura la existencia y posición de la termoclina, definiéndose 3 estratos de recolección de muestras: por debajo de la termoclina o muestra de fondo, a la profundidad de la termoclina, y una muestra por encima de la misma o superficial. En todas las estaciones estratificadas se realizó un barrido oblicuo de Multired, con tres paños de 300 μm de apertura de poro, en el caso de haber aguas estratificadas (fondo-termoclina-superficie) o dos paños de la misma malla (fondo-superficie) en el caso de haber aguas homogéneas. En ciertas estaciones denominadas “completas” se realizó, además, una Red cónica de 67 μm de apertura de poro en forma vertical, un paño adicional de la Multired (300 μm de apertura de poro) con un barrido desde las cercanías del fondo hasta la superficie, y un muestreo de agua a 5m obtenida a través del sistema del continuo del barco. Este muestreo completo se realizó en las estaciones CTII 5; RdP 9; CTI 2 y EPEA (Figura 2). Todas las estaciones fueron realizadas durante el día, entre las 6:30 am y 7pm.

De las muestras colectadas con la Multired en todas las estaciones generales, se separaron las larvas de *E. anchoíta* a bordo y se mantuvieron en un superfreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Estos individuos fueron posteriormente utilizados para las determinaciones de condición nutricional y crecimiento larvario (N=85).

En el caso de las estaciones completas, el material obtenido por la Red Cónica y el paño extra de la Multired fueron filtrados a bordo con un tamiz de 67 μm y de 300 μm correspondientemente, y se fijaron en alcohol etílico al 96%. Estas muestras de zooplankton y de larvas de *E. anchoíta*, junto con las muestras de agua, fueron utilizadas para el posterior análisis de posición trófica a través del análisis de isótopos estables.

Procesamiento de muestras

Condición nutricional y crecimiento

En el laboratorio, las larvas fueron descongeladas, se las fotografió y se midió su longitud estándar al micrómetro (LS) empleando una lupa Carl Zeiss equipada con cámara fotográfica y el software Axio-Vision. A cada una se le asignó un estadio de desarrollo de acuerdo a su flexión del notocordio (Alheit et al., 1991), siendo sus longitudes aproximadas: preflexión (menores a 8 mm de LS), flexión (entre 8-12,9 mm de LS) y postflexión (LS mayor a 12,9 mm). Se removieron las cabezas y se conservaron en alcohol etílico al 96%, mientras que el tronco larval fue liofilizado durante 24 hs. Posteriormente, se determinó el peso seco del tronco en microgramos empleando una microbalanza Sartorius. Los troncos fueron conservados a -80°C hasta su procesamiento para el análisis de condición nutricional. Se comparó la condición nutricional y el crecimiento teniendo en cuenta las longitudes de las larvas, y considerando las estaciones homogéneas y estratificadas. En el último caso además se comparó la condición y el crecimiento en los diferentes estratos de la columna de agua (superficie, termoclina y fondo).

Determinación de la condición nutricional

Para la obtención de los índices ARN/ADN se utilizó el protocolo descrito por Caldarone et al. (2001), junto con las modificaciones de Diaz y Pájaro (2012), a través de la determinación de concentraciones de ácidos nucleicos por espectro-fluorescencia. Se realizó la extracción de ácidos nucleicos mediante la lisis celular por medio de Sarcosil Tris EDTA 1% y agitación durante 1 hora. Luego se centrifugó por 15 min a 13400 rpm. Del sobrenadante obtenido de cada larva se tomaron



100 µl y se llevaron a un volumen de 1000 µl agregando 850 µl de Tris EDTA Buffer y 50 µL de Bromuro de Etidio (0,1 mg/ml) como fluorocromo. Las determinaciones fueron realizadas empleando un espectro-fluorómetro Perkin Elmer (Ex: 360 nm y Em: 590 nm). Para cada larva se registraron dos lecturas: la inicial correspondiente a los ácidos nucleicos totales y la segunda luego del agregado de 50 µl de enzima ARNasa (ARNasa A de páncreas bovino, Sigma R 6513) en una concentración de 20U/ml e incubación durante 30 min a 37°C correspondiente al contenido de ADN. La cantidad de ARN presente en cada una de las larvas se determinó por diferencia entre ambas lecturas. La determinación de la concentración de ácidos nucleicos se realizó por interpolaciones de una curva de calibración elaborada el mismo día del análisis. El cociente ADN/ARN (RD) se calculó para cada individuo. Todos los valores RD fueron estandarizados (RDs) de acuerdo al procedimiento descrito por Caldarone et al. (2006), utilizando el valor de pendiente de referencia de 2,4. El valor promedio para la pendiente de las curvas de calibración obtenidas en el presente estudio fue 2,74 ($\pm 0,62$ DS). Se estimó la tasa de crecimiento (G) para cada larva mediante el modelo RDs – Temp – G desarrollado por Buckley et al. (2008), con la fórmula:

$$G = 0,145 \times T + 0,0044 \times T \times \text{RDs} - 0,078 \quad (1)$$

Donde G es la tasa de crecimiento instantáneo y Temp es la temperatura medida de cada estrato en el que fueron recolectadas las larvas. Además, se calculó la performance de crecimiento (Gpf) como el cociente entre la tasa de crecimiento observada y la tasa teórica de crecimiento alcanzada por las larvas bajo condiciones óptimas del ambiente y alimentación (Gmax). Dicho cociente proporciona una medida objetiva de la condición larvaria (Buckley et al., 2008). Debido a la falta de un modelo de Gmax para *E. anchoita*, las tasas de crecimiento de las larvas se compararon con una tasa de crecimiento de referencia (Gref) de acuerdo a Houde y Zastrow (1993), quienes establecieron un modelo multi-específico basado en 80 especies marinas y estuarinas criadas bajo condiciones óptimas de temperatura (Temp). La fórmula utilizada fue:

$$\text{Gref} = 0,0106 \times \text{Temp} - 0,0203 \quad (2)$$

De este modo, los valores de performance de crecimiento mayores a uno (Gpf>1) indican una tasa de crecimiento superior a la obtenida bajo condiciones óptimas.

Determinación de la edad y crecimiento diario

Se extrajeron los otolitos sagitta de las cabezas conservadas en alcohol etílico al 96% bajo un microscopio de disección y se montaron en un medio transparente (Pro-texx). Después de 48 horas de secado, se analizó la microestructura. La observación con microscopio óptico se realizó en el máximo aumento (1000 X) con aceite de inmersión. La edad de cada individuo se determinó contando el número de incrementos diarios de crecimiento (Castello & Castello, 2003) a lo largo del eje del mayor radio de otolito (OR), desde el núcleo hasta el borde. La edad de las larvas se consideró válida cuando las diferencias entre el número de incrementos diarios del mismo par de otolitos eran menores o iguales al 10%, teniendo en cuenta el otolito en el que se apreciaba más claramente la microestructura.

Se utilizó un software de procesamiento de imágenes digitales (programa Kontron) para medir los espesores de los incrementos diarios según Brown & Sánchez (2010). Se calculó un valor de la tasa de crecimiento reciente (RGR) como el espesor medio de los últimos tres incrementos completamente formados, y se consideró como un valor del crecimiento larvario reciente (Somarakis & Nikolioudakis, 2007; Leonarduzzi et al., 2010; Do Souto et al. al., 2019). Además, se calculó un crecimiento diario promedio por edad (DG) para los individuos muestreados en aguas homogéneas y estratificadas.

Posición trófica

De las muestras obtenidas con la red cónica vertical, se separaron copépodos calanoideos menores a 1 mm de longitud del cuerpo (organismos herbívoros). Los organismos se secaron durante 72 hs a 60°C en una estufa. Posteriormente, se pesaron hasta alcanzar aproximadamente 1 mg total de peso seco de muestra y se encapsularon en cápsulas de estaño (5x9 mm). Cada cápsula se guardó en un pocillo de una placa de cultivo celular de 96 pocillos, y su posición fue claramente identificada.

De las muestras obtenidas con el paño extra de la Multired se midieron y separaron larvas de *E. anchoita* en sus distintos estadios de desarrollo: preflexión, flexión y postflexión. Los organismos separados en esos grupos se secaron durante 72 hs a 60°C en una estufa. Posteriormente, se pesaron hasta alcanzar aproximadamente 1 mg total de peso seco por muestra y se encapsularon en cápsulas



de estaño (de 5x9 mm). Cada cápsula se guardó en un pocillo de una placa de cultivo celular de 96 pocillos, y su posición fue claramente identificada. El mismo procedimiento de separación, medición, secado, pesado y encapsulado se realizó con quetognatos de 5 a 11 mm de longitud (organismos carnívoros).

En el caso de las muestras de agua, se filtró el agua proveniente de cada estación a través de filtros de fibra de vidrio GF/F de 0,7 μm de tamaño de poro previamente muflados a 500°C por 1 hora y media. Así se obtuvo el material orgánico particulado (MOP, base de la trama trófica planctónica). En cada estación se filtraron entre 3,5 y 5 litros de agua, dependiendo de la cantidad de material en suspensión, y los filtros se secaron durante 72 hs a 60°C en estufa. Después del secado, se removieron las partes sin material orgánico de cada filtro cortando con una tijera los bordes blancos, y se retiró el material orgánico con porciones de filtro con una pinza de baja presión. Este material se colocó en cápsulas de estaño (9x10 mm). En la misma placa de cultivo celular de 96 pocillos en donde se guardaron las muestras de zooplancton e ictioplancton, cada cápsula se guardó en un pocillo identificado.

Determinación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$

Las muestras encapsuladas y guardadas en la placa de cultivo celular de 96 pocillos fueron enviadas a la UC Davis Stable Isotope Facility (Davis, California, 95616, Estados Unidos de América) para realizar las determinaciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

En estas instalaciones, las muestras de tejido animal (zooplancton e ictioplancton) se analizaron utilizando un analizador de nitrógeno y carbono automatizado PDZ Europa Analizador Elemental de gas – sólido – líquido, conectado a un espectrómetro de masas de relación isotópica PDZ Europa 20–20 (Sercon). Las muestras se combustionaron a 1000 °C en un reactor saturado de óxido de cromo y óxido de cobre plateado. Después de la combustión, los óxidos se eliminaron en un reactor de reducción (cobre reducido a 650 °C). El portador de helio luego fluyó a través de una trampa de agua (perclorato de magnesio y pentóxido de fósforo), y finalmente el N_2 y el CO_2 fueron separados en una columna Carbosieve GC (65 °C, 65 ml / min) antes de ingresar al espectrómetro de masas. Las muestras de MOP se analizaron utilizando un analizador Elemental Vario EL Cube o Micro Cube conectado a un Isoprime VisION IRMS (Elementar UK Ltd, Cheadle, Reino Unido) o a un PDZ Europa 20–20 (Sercon). Las muestras se incineraron a 1080 °C en un reactor saturado de óxido de cromo y óxido de cobre plateado. Después de la combustión, los óxidos se eliminaron en un reactor de reducción (cobre reducido a 650 °C). El portador de helio luego fluyó a través de una trampa de agua (perclorato de magnesio y pentóxido de fósforo). El CO_2 se retuvo en una trampa de adsorción hasta que se analizó el pico de N_2 ; la trampa de adsorción luego se calentó liberando el CO_2 al espectrómetro de masas.

Durante el análisis, las muestras se intercalaron con varias réplicas de, por lo menos, cuatro materiales de referencia. Estos materiales de referencia se han calibrado previamente con materiales de referencia internacionales, incluidos: IAEA-600, USGS-40, USGS-41, USGS-42, USGS-43, USGS-61, USGS-64 y USGS-65). Los valores provisorios de cada muestra fueron corregidos en función de los valores conocidos de los materiales de referencia. La desviación estándar a largo plazo es de 0,2 permil para 13C y 0,3 permil para 15N. Los valores finales de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se expresan en relación con los estándares internacionales VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite) y Aire para carbono y nitrógeno, respectivamente (Sharp 2017).

Análisis de datos

Todos los análisis y gráficos de datos se realizaron utilizando el software R (R Development CoreTeam 2020).

Condición nutricional y crecimiento larval

La longitud estándar (LS), la condición nutricional (índices RDs y Gpf) y el crecimiento diario reciente (RGR) fueron comparados con respecto a la estratificación del agua (estratificada u homogénea) y con respecto a la transecta (CTII, RdP, CTI y EPEA) en gráficos de tipo BoxPlot. A su vez, se realizó un análisis gráfico del mismo tipo considerando la posición vertical en la cual fueron obtenidos los individuos (superficie, fondo y-de estar presente-termoclina). Para el análisis del crecimiento diario promedio por valor de edad (DG) se graficó en un BiPlot sus valores individuales para aguas estratificadas y homogéneas.

Para el análisis estadístico de RDs y RGR, se realizaron ANCOVAs utilizando la LS como covariable, para estudiar la significancia entre la relación de estos índices con respecto a las características de la columna de agua (estaciones homogéneas y estratificadas). En el caso de las estaciones con aguas estratificadas, además se realizaron ANCOVAs de estos índices con respecto a la posición vertical (fondo, termoclina y superficie). En el caso del índice DG, se realizó un ANCOVA con la edad como covariable y se estudió la relación de este índice con respecto a las características de la columna de agua (estaciones homogéneas y estratificadas).

Posición trófica

Las relaciones entre $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ fueron analizadas a través de gráficos de tipo BiPlot, considerando los organismos, las campañas y las estaciones del año en que fueron recolectados. Para estimar el nivel trófico de los organismos se utilizó el modelo de Post (2002):

$$\text{Nivel trófico} = \lambda + (\delta^{15}\text{N consumidor secundario} - \delta^{15}\text{N base})/\Delta n \quad (3)$$

Dónde: λ = nivel trófico utilizado para estimar el $\delta^{15}\text{N}$ base; en este caso se utilizó $\lambda=1$ para productores primarios (MOP); $\delta^{15}\text{N}$ consumidor secundario = fue medido directamente; Δn = enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ por nivel trófico=considerado de 3‰ en ambientes marinos (Peterson y Fry, 1987).

Resultados

Considerando la transecta en la cual fueron obtenidas las larvas de *E. anchoita*, se realizó un histograma de las longitudes estándar (LS en μm) de los individuos y se graficó la relación LS-Edad (días) para analizar el rango de tamaños y de edades presentes en cada zona (Figura 3). Los individuos capturados variaron entre los 4,551 y 17,268 mm de LS y los 4 y 31 días de vida.

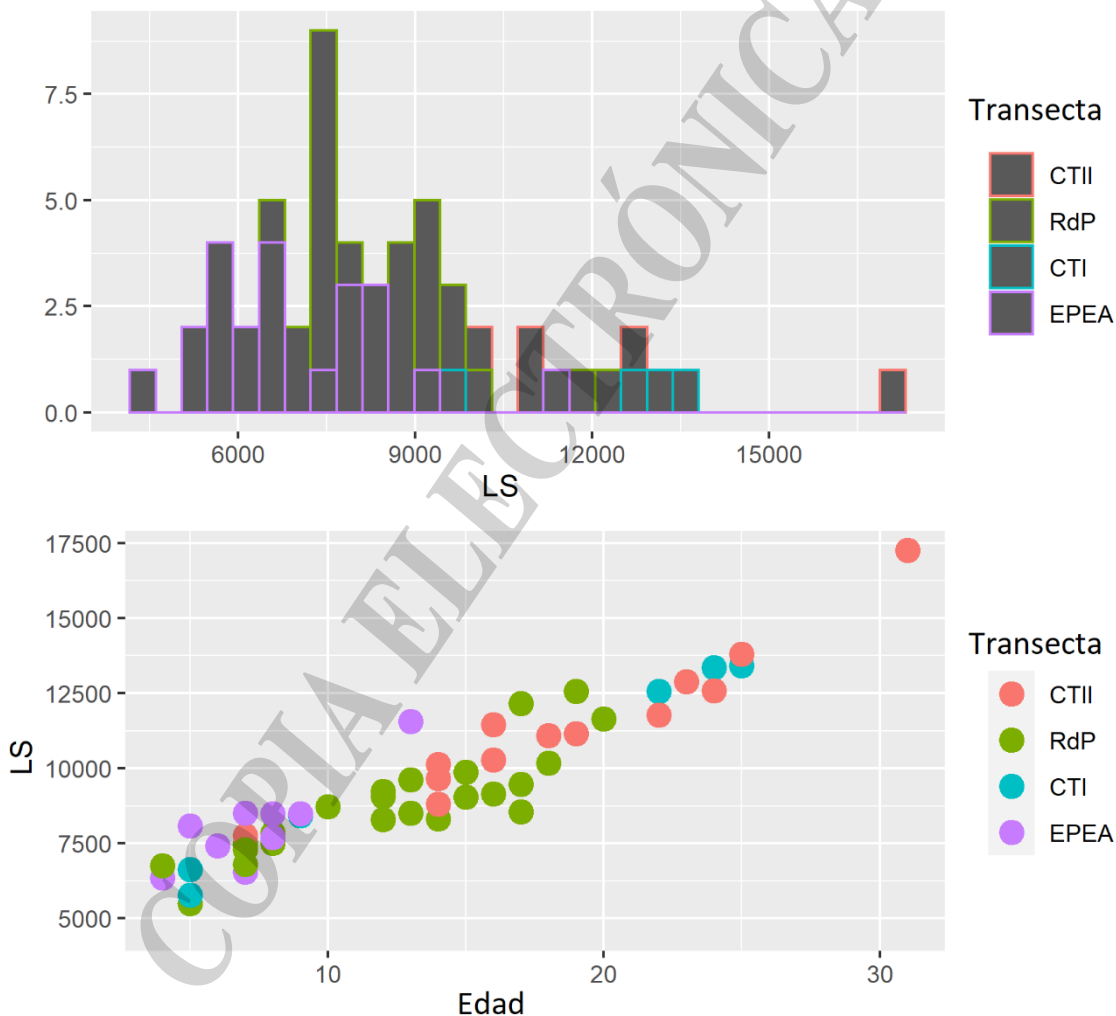


Figura 3. Arriba: histograma del número de larvas de *Engraulis anchoita* por longitud estándar (LS en μm) capturado en cada sección: COSTAL II (CTII), Río de la Plata (RdP), COSTAL I (CTI) y la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA). Abajo: relación de la longitud estándar LS (μm) por edad (días) de las larvas de *E. anchoita* capturadas en cada una de las secciones.

Condición nutricional y crecimiento larval reciente

Condición nutricional, crecimiento y posición trófica de larvas de anchoíta en la ZCPAU



Se analizó en forma gráfica las longitudes estándar (LS), los índices de condición nutricional (RDs y Gpf) y el crecimiento larval de los últimos días (RGR) en cada una de las transectas analizadas, agrupando los datos de acuerdo a las características de la columna de agua: homogénea o estratificada (Figura 4). Con respecto a la LS, los mayores valores se observaron en las aguas estratificadas de la CTII y RdP, mientras que los menores valores se observaron en las aguas homogéneas de la EPEA. Esta tendencia fue similar en el resto de los índices, tanto de condición nutricional (RDs, Gpf) como de crecimiento reciente (RGR). En el caso del índice Gpf, se observó que casi la totalidad de larvas obtenidas en CTII se encontraron por encima del óptimo de crecimiento, y la mayoría de las larvas obtenidas en la EPEA por debajo de la misma (Figura 4).

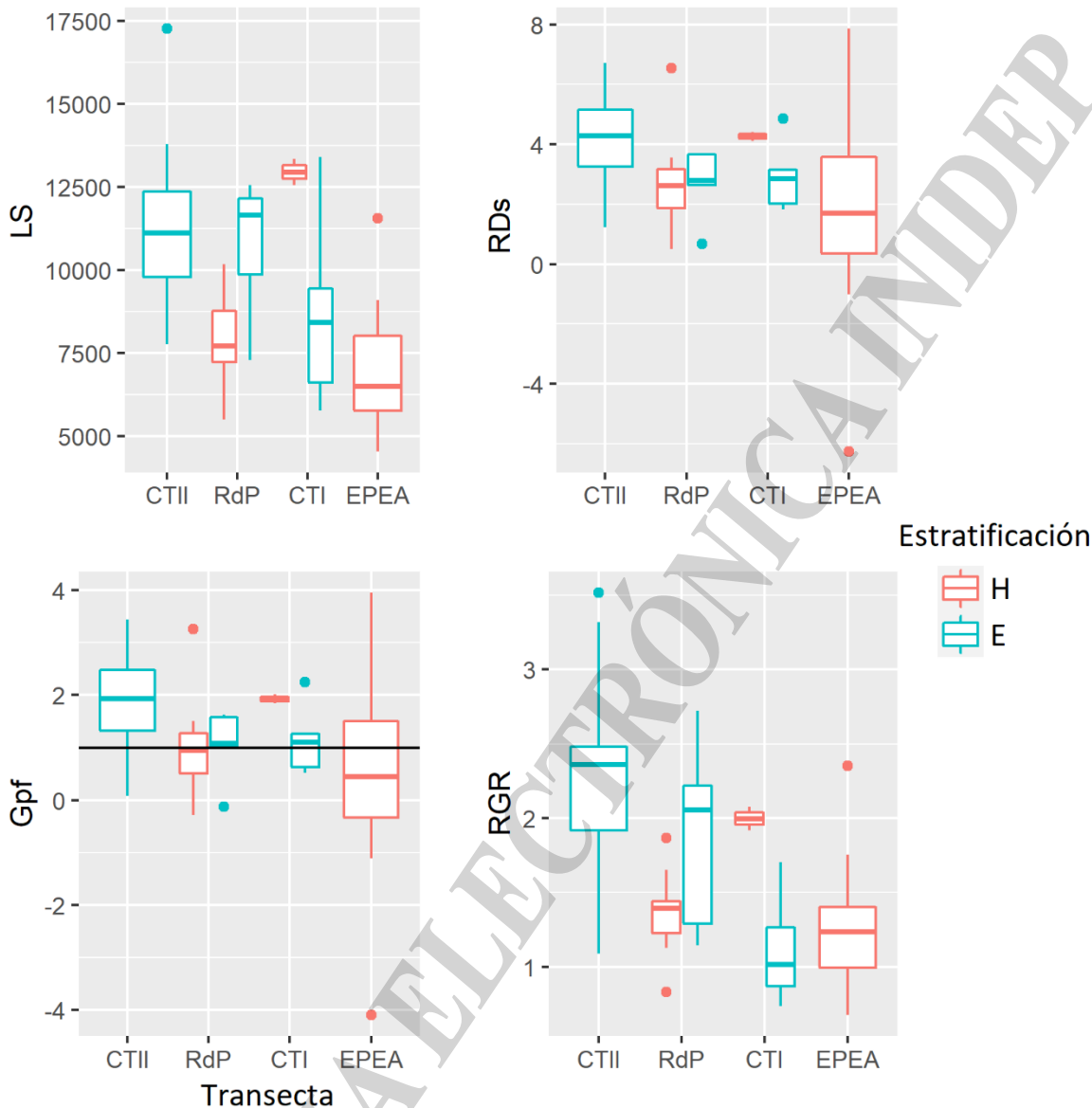


Figura 4. Longitud estándar (LS), condición nutricional (índices RDs y Gpf) y crecimiento reciente del otolito (RGR) de larvas de *Engraulis anchoita* respecto de la transecta (CTII, RdP, CTI y EPEA) y respecto de las características de la columna de agua (homogénea o estratificada) en donde fueron obtenidas. La línea negra horizontal representa el valor óptimo de Gpf (= 1).

Por otro lado, se analizaron estos mismos índices considerando el estrato vertical en donde se encontraban las larvas (fondo, superficie o termoclina, en caso de estar presente) a su vez de distinguir entre estaciones de aguas homogéneas y estratificadas (Figura 5). Gráficamente puede observarse que, en el caso de aguas homogéneas, no hubo diferencias entre los individuos capturados en el fondo respecto a los de la superficie, pero en el caso de aguas estratificadas, se observaron tendencias diferenciales de los índices entre el fondo, la termoclina y la superficie. En el caso particular de Gpf, se observó que los individuos capturados en aguas estratificadas (fondo y termoclina) presentaron valores por encima del óptimo. Los individuos recolectados en el estrato



superficial de aguas estratificadas, y fondo y superficie de aguas homogéneas, se encontraron en su mayoría por debajo de este valor óptimo.

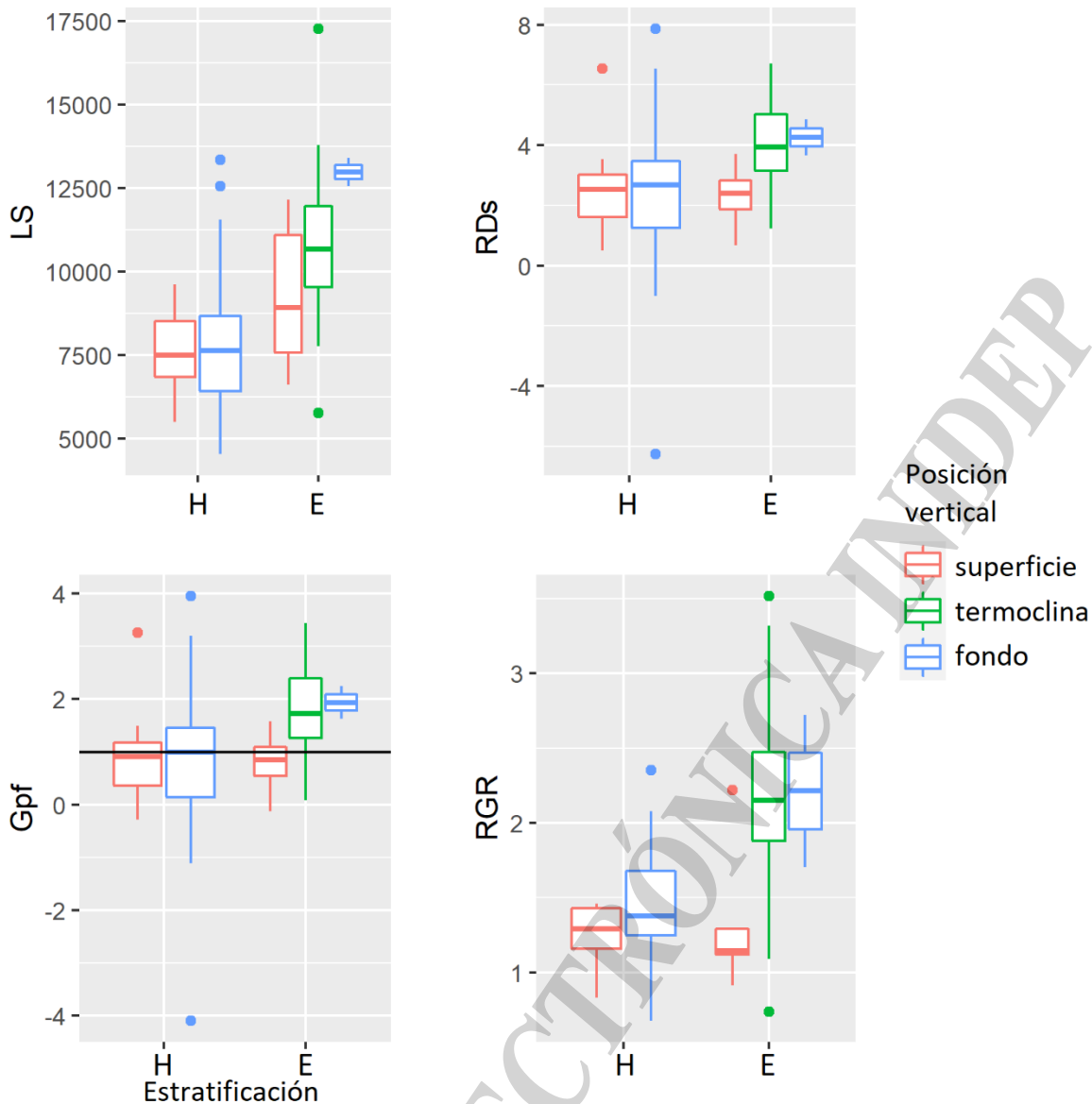


Figura 5. Longitud estándar (LS), condición nutricional (índices RDs y Gpf) y crecimiento reciente del otolito (RGR) de larvas de *Engraulis anchoita* respecto de las características de la columna de agua (estaciones homogéneas y estratificadas) y posición vertical en la columna de agua (superficie, termoclina o fondo) en donde fueron obtenidas. La línea negra horizontal representa el valor óptimo de Gpf (= 1).

Al analizar la condición nutricional (RDs) y el crecimiento reciente del otolito (RGR) de los individuos capturados en aguas homogéneas respecto a los capturados en aguas estratificadas en relación con la longitud estándar, se observó que ambos índices se incrementan con el tamaño (Figura 6, Tabla 2). El índice RDs presentó una mayor pendiente en aguas homogéneas, pero también un menor rango de tallas y una mayor dispersión de los datos. En el caso del índice RGR, los individuos capturados en aguas estratificadas presentaron los mayores valores a misma talla (Figura 6, Tabla 2).

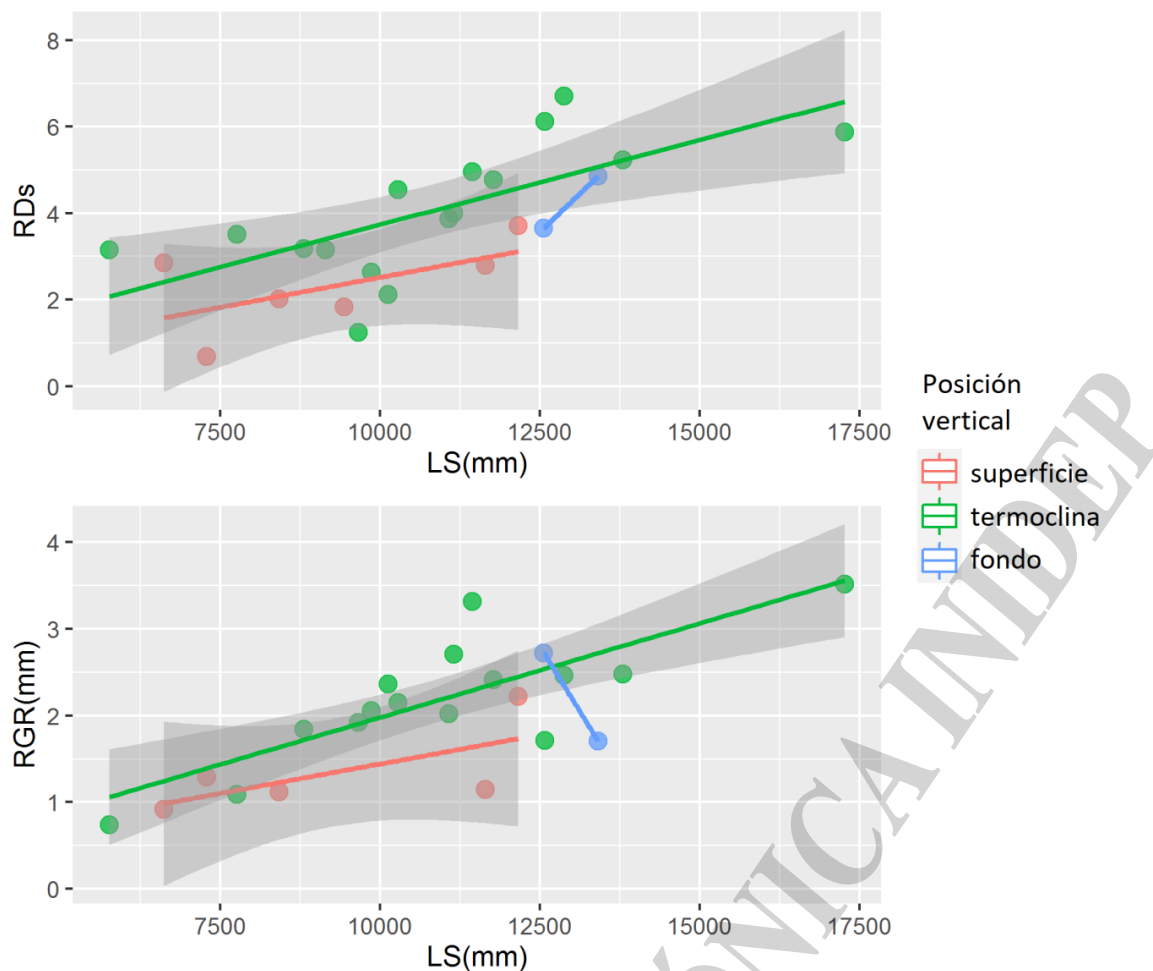


Figura 7. Arriba: condición nutricional (RDs) de los individuos de *Engraulis anchoita* provenientes de aguas estratificadas según el estrato vertical en donde fueron capturados (fondo, termoclina o superficie) con respecto de la longitud estándar (LS en mm). Abajo: crecimiento reciente del otolito (RGR) de los individuos de *E. anchoita* provenientes de aguas estratificadas según la posición vertical en donde fueron capturados (fondo, termoclina o superficie) con respecto de la longitud estándar (LS en mm).

Tabla 3. ANCOVA de la condición nutricional (RDs) y del crecimiento reciente del otolito (RGR) de los individuos de *Engraulis anchoita* provenientes de aguas estratificadas según el estrato vertical en donde fueron capturados (fondo, termoclina o superficie). Niveles de significancia = 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’

RDs	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Posición Vertical	2	14,2032	7,1016	5,948	1,04E-02	*
LS	1	17,9631	17,9632	15,0452	1,10E-03	**
Posición Vertical:LS	2	0,6643	0,3322	0,2782	0,7603	
Residuales	18	21,491	1,1939			
RGR	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Posición Vertical	2	2,8039	1,402	7,1695	5,98E-03	**
LS	1	4,9215	4,9215	25,1684	1,27E-04	***
Posición Vertical:LS	2	0,8423	0,4212	2,1538	0,1484869	
Residuales	16	3,1287	0,1955			

Crecimiento diario por edad

Al analizar el crecimiento diario por edad (DG) de los individuos capturados en aguas homogéneas respecto a los capturados en aguas estratificadas, pudo observarse que el crecimiento fue mayor en

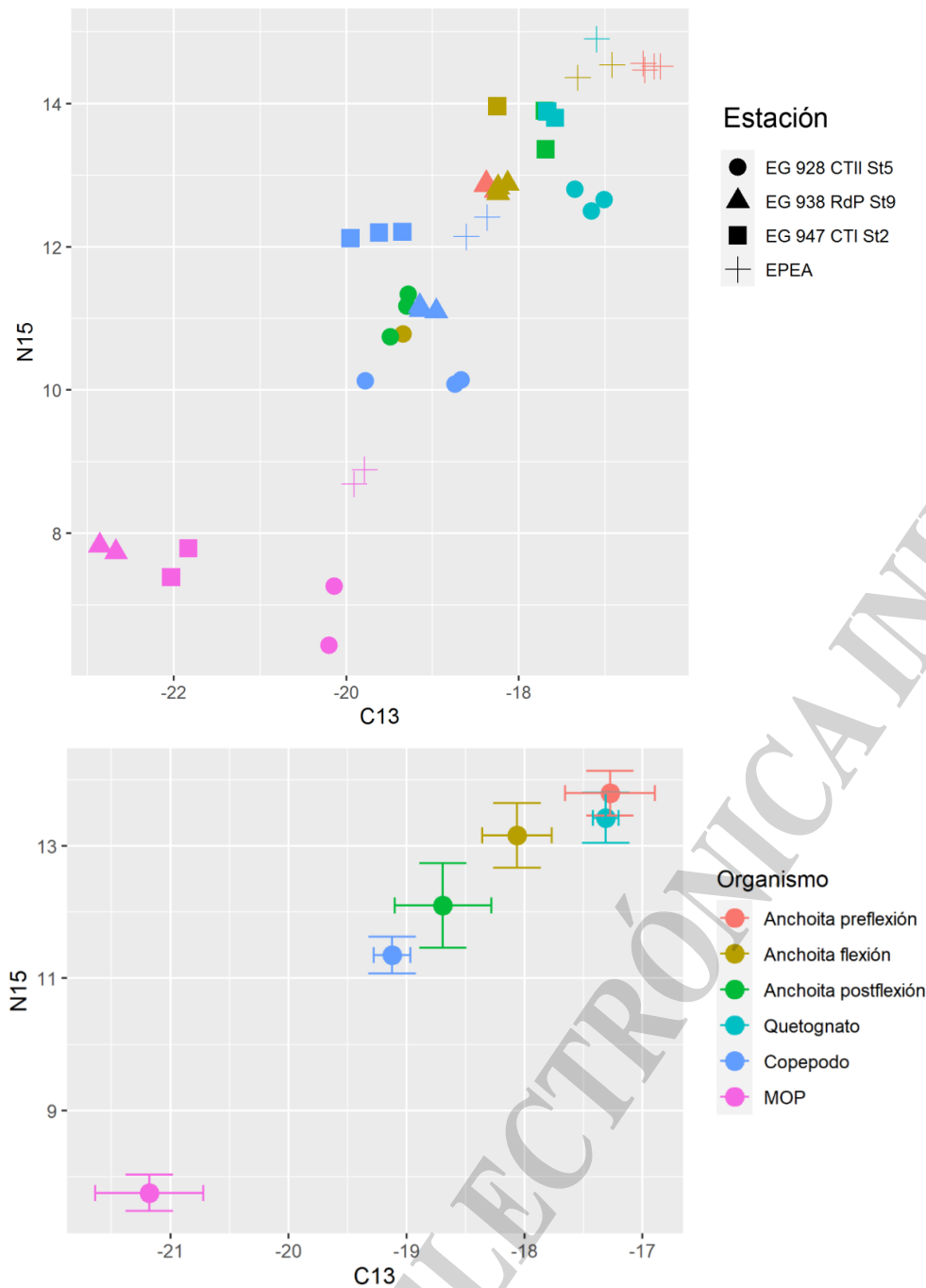


Figura 9. Arriba: Valores de los isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de las cuatro transectas analizadas. MOP: material orgánico particulado. Abajo: valores medios y desvíos estándar por grupos de organismos.

En este caso, quedó evidenciada una superposición trófica entre el estadio de preflexión de *E. anchoita* y los quetognatos, ubicándose en el extremo derecho y superior del gráfico correspondiendo así a los predadores tope de la trama trófica estudiada. Los estadios de flexión y postflexión se ubicaron entre la posición de los copépodos calanoideos y los quetognatos, y en la base, el MOP.

En la Figura 10 se indican los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ obtenidos para las estaciones agrupadas por aguas homogéneas (RdP, CTI y EPEA) y aguas estratificadas (CTII). En este caso, puede observarse que en la estación de aguas estratificadas (CTII) las larvas de *E. anchoita* en flexión y postflexión presentaron valores de $\delta^{15}\text{N}$ próximos a los valores presentados por los copépodos calanoideos y, a su vez, valores de $\delta^{13}\text{C}$ menores en relación a los copépodos calanoideos. En el caso de las estaciones homogéneas, esos valores, tanto de $\delta^{13}\text{C}$ como de $\delta^{15}\text{N}$ fueron más próximos a los valores de los quetognatos. No se hallaron larvas en preflexión en la estación CTII.

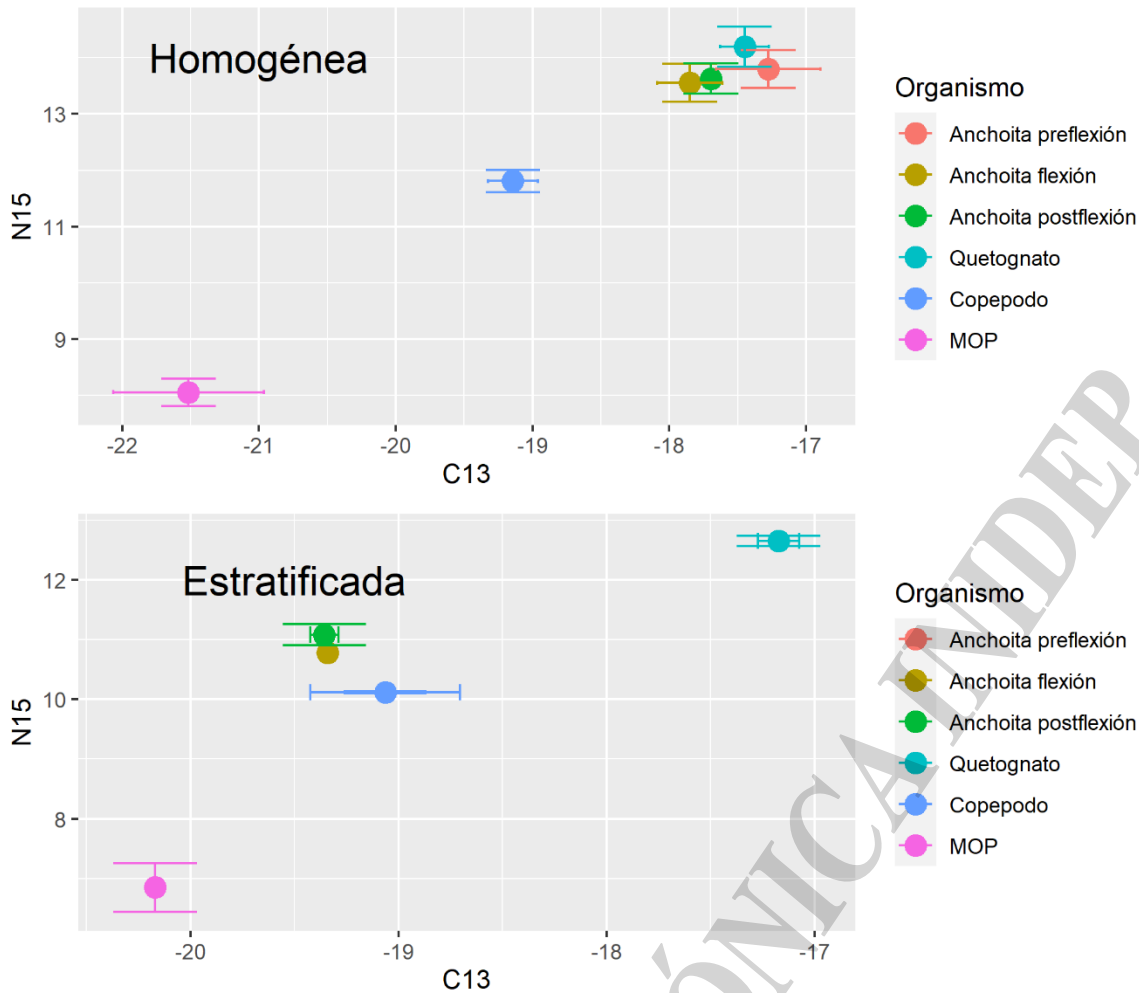


Figura 10. Valores medios y desvíos estándar de los isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de los organismos obtenidos por las características de la columna de agua (estaciones homogéneas y estratificadas). MOP: material orgánico particulado.

Al analizar los niveles tróficos (NT) promedio (Figura 11) considerando un fraccionamiento de 3‰ y al MOP como base trófica, los resultados coinciden con lo observado en forma gráfica en la Figura 9. En este caso (Figura 11), las larvas de anchoíta en sus tres estadios de desarrollo coinciden en el mismo nivel trófico promedio presentado por los quetognatos, resultando en consecuencia como aparentes competidores del alimento. Los copépodos se ubicaron en un nivel trófico próximo a 2 y el MOP se consideró como la base de la trama trófica en el nivel 1. La mayor desviación estándar fue observada en el nivel trófico promedio de las larvas de anchoíta en estadios de flexión y postflexión. Al analizar las estaciones agrupadas según las características de la columna de agua (Figura 12), se observó que los niveles tróficos de las larvas de anchoíta en aguas homogéneas mantuvieron la tendencia general observada en la Figura 11. Sin embargo, en el caso de los individuos colectados en aguas estratificadas, se observó una diferencia entre la posición trófica de las larvas en los estadios de flexión y postflexión, ya que se ubicaron entre las posiciones de los copépodos y de los quetognatos (NT de copépodos calanoideos: $1,84 \pm 0,01$; NT de anchoíta en flexión: $2,06$; NT de anchoíta en postflexión: $2,16 \pm 0,10$; NT de quetognatos: $2,69 \pm 0,05$). En este caso, las larvas de anchoíta se encontrarían en una posición trófica intermedia entre los organismos herbívoros y carnívoros, pudiendo interpretarse como en una condición omnívora.

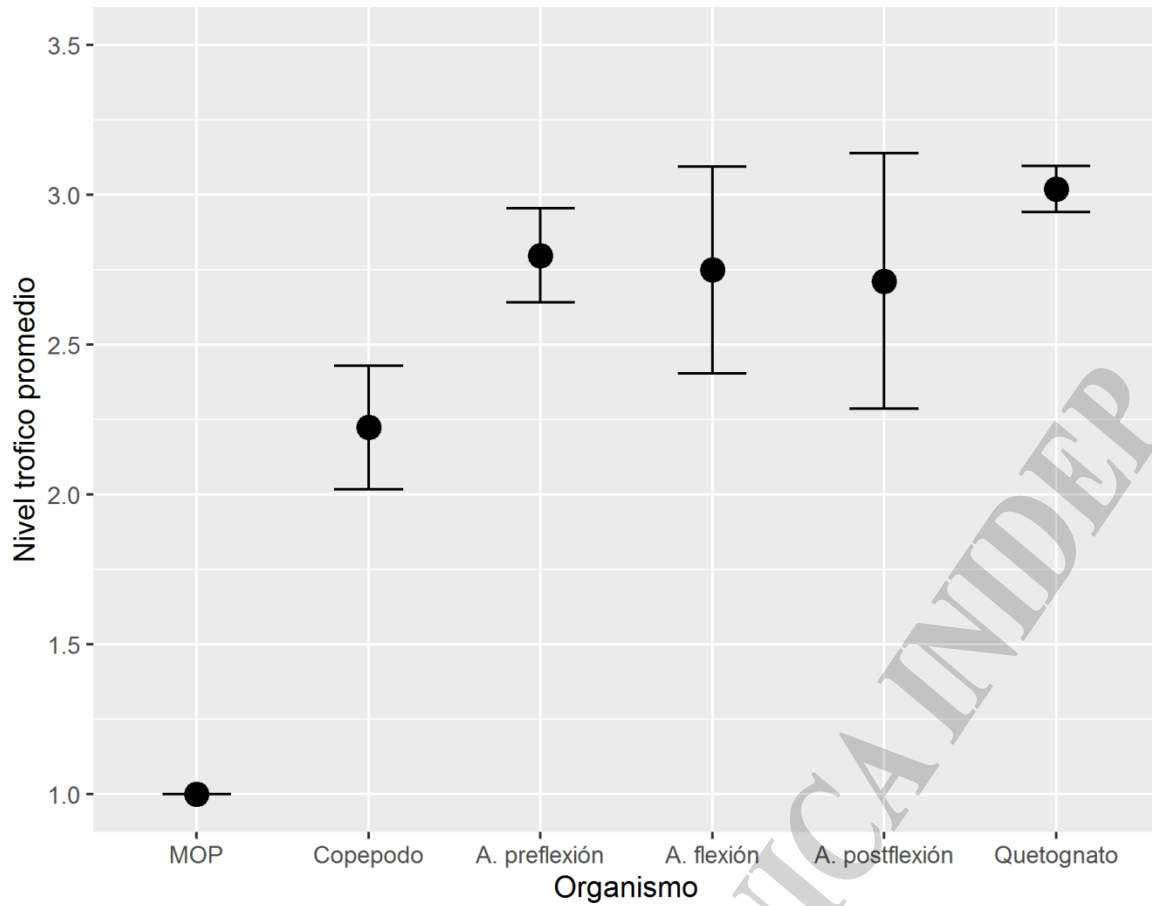


Figura 11. Niveles tróficos promedio para los organismos analizados: larvas de anchoíta en estadios preflexión, flexión y postflexión, copépodos calanoideos y quetognatos. Se consideró al material orgánico particulado (MOP) como línea de base para los cálculos.

COPIA ELECTRÓNICA INIDEP

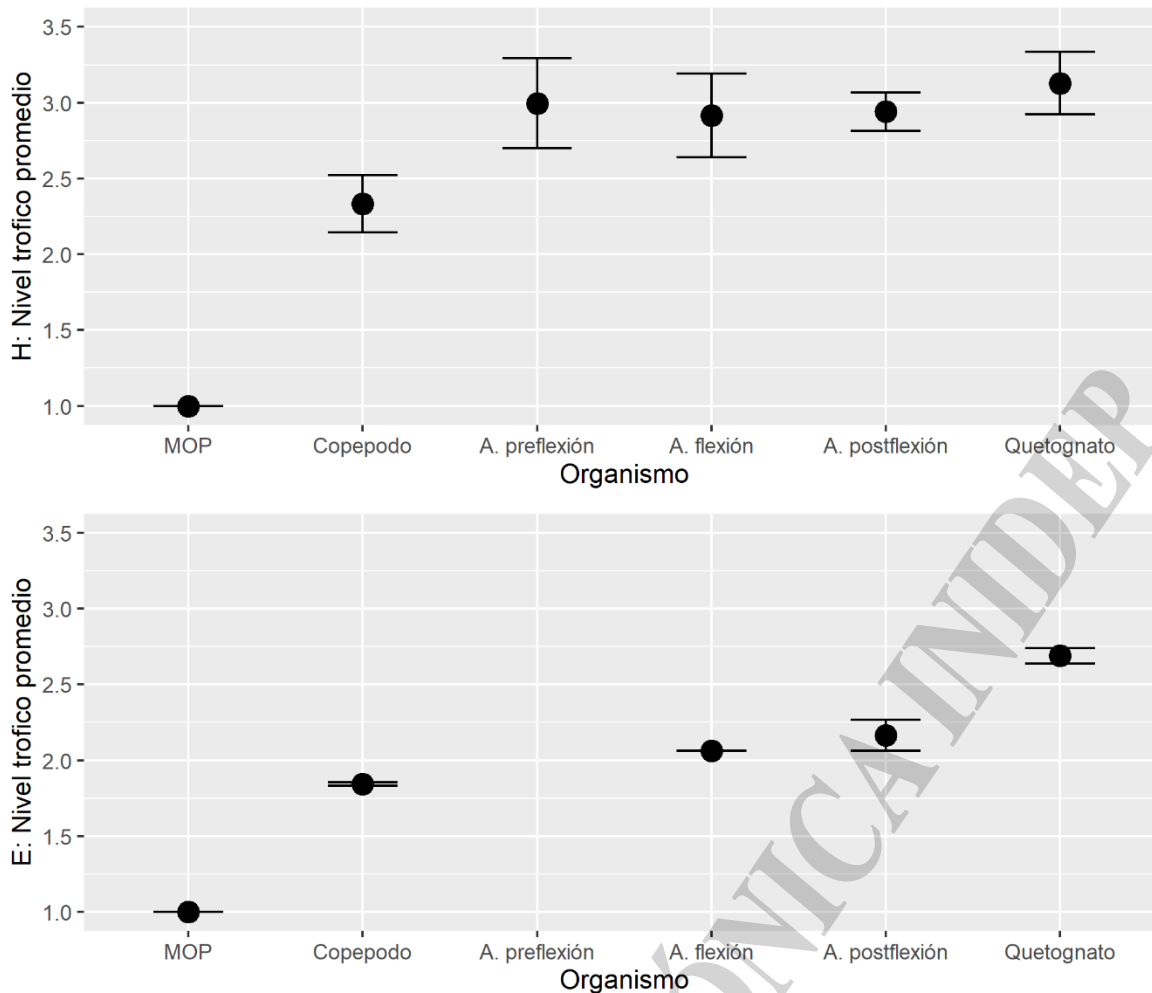


Figura 12. Niveles tróficos promedio en aguas homogéneas (H) y estratificadas (E) para los organismos analizados: larvas de anchoíta en estadios preflexión, flexión y postflexión, copépodos calanoideos y quetognatos. Se consideró al material orgánico particulado (MOP) como línea de base para los cálculos.

Discusión

En el presente trabajo el objetivo fue determinar y analizar en forma comparativa el crecimiento diario, la condición nutricional y la posición trófica de larvas de *E. anchoita* en el marco de la campaña VA1219 “Salud ambiental y plancton en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya en un escenario de Cambio Global” respecto tanto a la distribución horizontal como vertical en la columna de agua, en el caso de haber estratificación de la misma. Se hallaron larvas de *E. anchoita* en todas las transectas analizadas, aunque no en todas las estaciones generales del área de estudio. Considerando que la campaña comenzó en el sentido Norte-Sur (CTII, RdP, CTI y finalmente la EPEA) e incluso habiendo 10 días de diferencia entre las estaciones más separadas temporalmente, los individuos de mayores tamaños y edades se encontraron en la transecta ubicada más al norte (CTII) mientras que los individuos más recientemente eclosionados se encontraron en la estación más sureña del área (EPEA). Esto coincide con lo previamente reportado en la bibliografía de esta especie, en donde se ha observado que la actividad reproductiva de la misma comienza en el norte y luego se extiende en sentido sur, con las mayores densidades de huevos y larvas próximas a la isobata de 50m (Ciechomski y Weiss, 1974; Sánchez, 1995). De la misma forma, se observó una tendencia de mayores índices de condición nutricional (RDs y Gpf) y de crecimiento reciente (RGR) en la CTII respecto al resto de las transectas, con los menores valores reportados en la EPEA. Esto puede asociarse directamente con la edad y tamaño de los individuos, debido a que los organismos de mayor edad y tamaño presentan valores más elevados de estos índices al haber avanzado en la ontogenia (Díaz et al. 2016; Do Souto et al., 2019a; Do Souto et al., 2019b).

Al considerar la estratificación de la columna de agua, los individuos obtenidos en estaciones con aguas estratificadas presentaron mayores valores en los indicadores de condición y crecimiento



reciente respecto de los obtenidos en aguas homogéneas. Esto coincide con resultados previamente observados de estos índices de crecimiento respecto de la estratificación del agua. Do Souto et al. 2018 y Do Souto et al. 2019b observaron que la presencia de aguas estratificadas se relacionaba positivamente con la abundancia de alimento potencial de las larvas de *E. anchoita*, y a su vez con una mejor condición nutricional y mayor crecimiento reciente de las mismas. Cuando se empleó la longitud de los ejemplares como covariable, el crecimiento reciente presentó una mayor pendiente en aguas estratificadas. Sin embargo, el índice de condición nutricional RDs no presentó esa tendencia. No podemos desestimar que esto se deba a que los individuos capturados en aguas estratificadas eran en su gran mayoría de longitudes superiores a 9 mm de la longitud estándar, mientras que en aguas homogéneas los valores eran mucho menores. Diaz et al. (2019) han observado que durante la ontogenia temprana de las larvas de *E. anchoita* el índice RDs muestra un incremento, pero este incremento no es lineal mostrando una reducción durante la transición entre el estadio de preflexión hacia el estadio de flexión. Por otro lado, las aguas estratificadas podrían presentar una mayor densidad de larvas generando un incremento en la competencia intra-específica o bien podría darse una mayor abundancia de otros organismos que están depredando sobre las mismas presas que las larvas, incrementando la competencia inter-específica y disminuyendo el índice RDs promedio. La presencia de la estratificación podría operar como barrera entre estratos y por el contrario la falta de estratificación aumentaría las posibilidades de encuentro con depredadores que podrían consumir selectivamente las larvas en condición más desfavorable y con menor posibilidad de evadir la depredación, generando de este modo un sesgo positivo en los índices de condición observada (Diaz et al., 2016; 2020). Estos fenómenos podrían no operar de la misma manera en todos los estadios de desarrollo larval.

En trabajos previos se ha detectado una mejor condición nutricional de larvas de *E. anchoita* en áreas de mayor productividad, asociadas con la presencia de sistemas frontales frente a sectores con estructuras de aguas homogéneas (Clemmensen et al., 1997; Diaz et al., 2016; Do Souto et al., 2019b). Esto también se observó en otras especies de anchoa en este mismo tipo de sistemas (Chícharo, Chícharo, Valdez, Lopez-Jamar, & Ré, 1998; García et al., 1998; Huang & Chiu, 1998). Los índices larvarios de RD y la disponibilidad de alimento demostraron estar altamente correlacionados en una amplia variedad de especies tanto en estudios de laboratorio como de campo (Buckley, 1980, 1984; Buckley & Lough, 1987; Chícharo, Chícharo, López-Jamar, Valdes, & Ré, 1998; Chícharo, Chícharo, Valdez, et al., 1998; Esteves et al., 2000; Theilacker, Bailey, Canino, & Porter, 1996).

Con respecto a las estaciones estratificadas, la distribución vertical de las larvas de peces a menudo se ha relacionado con la estratificación térmica de la columna de agua, siendo la termoclina una estructura que les ayudaría a mantener su distribución en profundidad. Palomera (1991) observó que las larvas de *E. encrasicolus* se ubicaron por encima del nivel de la termoclina, y con una abundancia máxima generalmente en los primeros 10 metros de la columna de agua. Rodríguez et al. (2015) estudiaron la distribución vertical de las larvas de varias especies de peces en estaciones con aguas estratificadas y homogéneas, y determinaron que independientemente de la estratificación del agua, las larvas permanecían próximas a la superficie en los primeros 100 m de profundidad. Sin embargo, establecieron que las larvas en las estaciones homogéneas permanecían cerca de la superficie a través de una natación activa como mecanismo de supervivencia. Esto podría presentar una desventaja fisiológica frente a las larvas que permanecen en la posición vertical ayudadas por la estructura física de la columna, pudiendo reflejarse en una peor condición nutricional o en un menor crecimiento. La termoclina también puede funcionar como una barrera superior o inferior para su distribución (Ahlstrom, 1959; Boehlert et al., 1985; Moser y Pommeranz, 1999; Smith y Suthers, 1999). En nuestro trabajo hallamos evidencias de variaciones en las historias de vida de las larvas capturadas en los diferentes niveles respecto a la estratificación vertical de la columna de agua. En este estudio pudieron detectarse diferencias estadísticamente significativas de una mejor condición nutricional y crecimiento reciente en los individuos ubicados en la termoclina, en especial respecto de aquellos capturados en la superficie. Sin embargo, dado el bajo número de individuos analizados se destaca la necesidad de continuar esta línea de trabajo a futuro empleando un mayor número de muestras.

Las diferencias observadas en los estratos de la columna de agua para la condición nutricional podrían estar relacionadas con la disponibilidad de alimento apropiado en el plano vertical.



Rodríguez et al. (2015) encontraron una fuerte correlación entre la distribución vertical de las larvas de peces y el mesozooplancton. Esta relación entre estos dos componentes del zooplancton podría ser trófica, con larvas de peces depredando o siendo depredadas por el mesozooplancton (Bailey, 1984; Hunter, 1984). Un fácil acceso al alimento en la profundidad de la termoclina podría reflejarse en una mejor condición nutricional y un mayor crecimiento reciente.

Con respecto a las variaciones observadas en la posición trófica, las larvas en los estadios de flexión y postflexión presentaron un perfil trófico distinto en aguas estratificadas respecto de las aguas homogéneas. En el caso de aguas homogéneas, observamos un perfil trófico tradicional, en donde las larvas comparten una posición carnívora junto con los quetognatos. En el caso de las aguas estratificadas, el perfil trófico de las larvas de anchoíta se parecería más al de los copépodos que al de los quetognatos. Los resultados aquí obtenidos apoyan observaciones previas realizadas por Do Souto et al. (2020), en dicho trabajo se plantea que la posición trófica de las larvas de anchoíta presenta cierta variabilidad respecto de la de los quetognatos y copépodos calanoideos, pudiendo ser indicio de la existencia de larvas de *E. anchoíta* con hábitos omnívoros, en especial en sus estadios de desarrollo más avanzados, en determinados contextos ambientales. En el caso de Do Souto et al. (2020), se observaron variaciones a nivel estacional donde en el otoño las larvas presentaron una posición trófica más asociada a la omnivoría, mientras que las larvas obtenidas en el resto de las estaciones se encontraron en el tope de la trama trófica planctónica. La variación estacional en la comunidad planctónica del área bonaerense es un fenómeno ampliamente estudiado hace años. En particular, con muestreos mensuales en el período de los años 2000 y 2001, se realizaron múltiples trabajos considerando a la composición del zooplancton, fitoplancton, clorofila-a y contenidos estomacales, tanto de quetognatos como de larvas de *E. anchoíta* (Viñas et al., 2013; Sato et al., 2011a; 2011b). Viñas et al. (2013) observaron que los meses podían agruparse en tres grandes grupos: una época fría (invierno-primavera), una época cálida (verano) y una época transicional (otoño). Durante el periodo frío (invierno-primavera, correspondiente a la época de este presente trabajo), la temperatura de la superficie y del fondo fueron mínimas, mientras que la clorofila-a superficial y el microfitoplancton (representantes de productores primarios de mayor tamaño que en verano) presentaron sus valores más altos. A su vez, en este período ocurrió la mayor abundancia de organismos herbívoros, como la mayoría de los copépodos calanoideos. El período de transición (otoño) se caracterizó por valores intermedios de temperatura tanto superficiales como de fondo, con una concentración de clorofila-a superficial intermedia y valores más bajos de picofitoplancton. Esto indicaría la existencia de un cambio en la composición, tanto del fitoplancton como del zooplancton, relacionado con la estacionalidad, algo característico de un mar templado - frío. En el caso del presente trabajo, la variación ocurriría entre aguas homogéneas versus estratificadas, en un contexto de fin de primavera y comienzo de verano. Estas variaciones en las interacciones tróficas podrían ser la causa de las variaciones de las diferencias observadas en el crecimiento y la condición nutricional en aguas estratificadas y homogéneas.

Adicionalmente, es notoria la variación en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las larvas en aguas estratificadas con respecto a los valores obtenidos del MOP. Cabe destacar que las muestras de agua utilizadas para la determinación de MOP fueron obtenidas en todos los casos a 5 metros de profundidad. En el caso de las estaciones cuyas aguas eran homogéneas, los valores obtenidos de MOP probablemente se correspondan con el de la base trófica a la trama a la que pertenecen las larvas de anchoíta independientemente de su posición vertical, pero en el caso de haber una estratificación, esto podría no ser representativo de la base trófica si las larvas se encontraban exclusivamente alimentándose en la termoclina. Por lo tanto, se sugiere que para futuros estudios se colecten las muestras de agua a la profundidad de la termoclina para la determinación de valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del MOP.

En el caso de las larvas en estadio preflexión, el efecto materno todavía puede contribuir a la firma isotópica detectada. En este estadio temprano, el tejido de las larvas de peces refleja dos factores: los isótopos de sus dietas y los isótopos de los progenitores (Uriarte et al. 2016). Basándose en experimentos de alimentación con cambio de dieta, Tanaka et al. (2016) demostraron que en la anchoíta japonesa (*E. japonicus*) las proporciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en los huevos son similares a las proporciones de isótopos de los alimentos de sus padres. De esta forma, las larvas en estadio de preflexión de *E. anchoíta* podrían presentar un efecto mezcla de composición isotópica, fenómeno



que iría disminuyendo a lo largo del desarrollo ontogénico. Esto podría explicar por qué los valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las larvas en preflexión fueron elevados en relación al resto de los organismos. A pesar de las limitaciones de esta técnica, la información que brinda respecto de los estudios de contenido intestinal es pertinente y complementaria, dado que se presentan dificultades metodológicas asociadas a la morfología intestinal (Ciechomski & Weiss, 1974), y que podría existir algún otro elemento planctónico que complemente la dieta larvaria además de las nauplii de copépodos. Aunque se han encontrado elementos de fitoplancton en pequeñas cantidades en el contenido estomacal de larvas de *E. anchoita* en los stocks argentinos (Sato et al., 2011; Viñas & Ramírez, 1996), es posible que algunos organismos no resistan la fijación de formaldehído o que sean expulsados del tracto digestivo por efecto de la presión en las redes cuando las larvas son capturadas. Considerando que la anchoíta presenta una gran plasticidad, con un área de desove de una amplitud latitudinal muy grande y presente durante todo el año (Pájaro et al. 2008), es muy probable que su alimentación se ajuste a la disponibilidad de organismos planctónicos en el ambiente, pudiendo disponer tanto de presas del microzooplancton como de otras que, por cuestiones metodológicas, no podemos observar en los análisis estomacales tradicionales. Como observaron Viñas et al. (2013), el cambio en la composición del zooplancton y la disminución del micro y mesozooplancton en abundancia podrían generar un cambio en la alimentación de las larvas, incluyendo otro tipo de presas, inclusive organismos presentes en la alimentación de copépodos herbívoros. Se requieren continuar con este tipo de estudios y analizar más componentes del plancton para comprender las variaciones observadas en las historias de vida de las larvas de anchoíta.

En conclusión, podemos establecer sobre la base de los resultados obtenidos en este trabajo que la estratificación del agua y la posición vertical de las larvas en la columna repercuten en sus historias de vida, pudiendo así afectar el reclutamiento posterior de los adultos en la ZCPAU. Edwards y Richardson (2004) indicaron que los ambientes marinos templados son particularmente vulnerables al cambio climático debido a su dependencia de la sincronización entre el desarrollo de los distintos organismos, desde el fitoplancton hasta los productores secundarios. Estos autores indican que un cambio en los ciclos estacionales llevaría al desajuste entre los distintos niveles tróficos, y que ya existe evidencia de que esto está ocurriendo en el mundo. Cambios en las dinámicas de la estratificación del agua causados por el cambio climático podrían llevar a una descoordinación espacial y/o temporal entre las larvas y su alimento potencial, lo que implica un impacto en las historias de vida de las larvas. Sobre la base de las teorías aceptadas de reclutamiento (Hjort, 1914; Houde, 2008), este fenómeno generaría una disminución de individuos que alcancen la adultez, y así un desequilibrio de todo el ecosistema, “cintura de avispa” (Bakum, 2006). Estos ecosistemas presentan una configuración con muchas especies en la parte inferior, muchas en la parte superior, pero restringida a unas pocas especies dominantes en un nivel medio. A su vez, estos efectos podrían ser potenciados por la influencia antrópica en caso de que en el futuro se ejerza un mayor esfuerzo pesquero sobre esta especie. Actualmente, el stock bonaerense tiene una biomasa alta cercana a los niveles históricos (Orlando et al., 2019; Ciancio et al., 2020), pero el tamaño promedio de los individuos en la captura ha disminuido, y la causa de este hecho es poco conocida, ya que es una población subexplotada comercialmente (Garciaarena et al. 2019). Este hecho incrementa el interés por continuar desarrollando este tipo de estudios a fin de tener una comprensión integral de los procesos que regulan vida de los peces previa al reclutamiento, en particular de aquellos que constituyen recursos de interés económico.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias a la colaboración de nuestros compañeros del INIDEP, especialmente D. Acevedo y M. Bertelo (Departamento de Operaciones), quienes participaron en la preparación de la campaña. También agradecer a H. Fenco, M. Veccia y A. Baldoni (Gabinete de Oceanografía Física) que participaron en la recolección de datos y el procesamiento de datos de oceanografía física. Además, nos gustaría agradecer al capitán y tripulación del BIP Víctor Angelescu. Este estudio financiado en su mayoría por INIDEP (Programa DiPlaMCC) y por la CTM, incluyendo el envío y determinación de muestras de isótopos estables en el exterior.



Bibliografía

- Acha EM, Mianzan HW, Guerrero RA, Favero M, Bava J. 2004. Marine fronts at the continental shelves of austral South America: physical and ecological processes. *J Mar Syst.* 44: 83-105.
- Ahlstrom EH. 1959. Vertical distribution of pelagic fish eggs and larvae off California and Baja California. *Fish Bull.* 60: 107-146.
- Alheit J, Ciechowski JD, Djurfeldt L, Ebel C, Ehrlich MD, Elgue JC, Viñas MD. 1991. SARP Studies on Southwest Atlantic anchovy, *Engraulis anchoita*, off Argentina, Uruguay and Brazil. *ICES Biol Oceanogr Comm.* 46: 1-66.
- Angelescu V. 1982. Ecología trófica de la anchoíta del Mar Argentino (*Engraulidae*, *Engraulis anchoita*). Parte II. Alimentación, comportamiento y relaciones tróficas en el ecosistema. *Contrib Inst Nac Invest Desarr Pesq (Mar del Plata)*. N° 409. 83 p.
- Bailey KM, Canino MF, Napp JN, Spring SM, Brown AL. 1995. Contrasting years of prey level, feeding conditions, and mortality of larval walleye Pollock *Theragra chalcogramma* in the western Gulf of Alaska. *Mar Ecol Prog Ser.* 119: 11-23.
- Bailey KM. 1984. Inferences regarding predation on the early Life stages of cod and other fishes. *Mar Biol.* 79: 303-309.
- Bakun A. 2006. Wasp-waist populations and marine ecosystem dynamics: navigating the “predator pit” topographies. *Prog Oceanogr.* 68: 271-288.
- Baumann H, Pepin P, Davidson F, Mowbray F, Schnack D, Dower J. 2003. Reconstruction of environmental histories to investigate patterns of larval radiated shanny (*Ulvaria subbifurcata*) growth and selective survival in a large bay of Newfoundland. *ICES J Mar Sci.* 60: 243-258.
- Bertolotti MI, Brunetti NE, Carreto JI, Prenski LB, Sánchez RP. 1996. Influence of shelf-break fronts on shellfish and fish stocks of Argentina. *ICES CM.* N° 41. 15 p.
- Boehlert GW, Gadamaski DM, Mundy BC. 1985. Vertical distribution of ichthyoplankton off the Oregon coast in spring and summer months. *Fish Bull.* 83: 611-622.
- Boschi EE. 1997. Las pesquerías de crustáceos decápodos en el litoral de la República Argentina. *Invest Mar.* 25: 19-40.
- Brown DR, Sánchez RP. 2010. Larval and juvenile growth of two Patagonian small pelagic fishes: *Engraulis anchoita* and *Sprattus fuegensis*. *Rev Invest Des Pesq.* 20: 35-50.
- Brown DR, Leonarduzzi E, Averbuj A, Livore JP. 2013. Temporal variation in *Engraulis anchoita* eggs and larvae abundance in northpatagonian littoral between January-April 2001. Larval growth and mortality. *Rev Invest Des Pesq.* 23: 175-192.
- Buckley LJ, Lough RG. 1987. Recent growth, biochemical composition, and prey field of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) on Georges Bank. *Can J Fish Aquat Sci.* 44: 14-25.
- Buckley LJ, Caldarone EM, Clemmesen C. 2008. Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis. *Mar Ecol Prog Ser.* 371: 221-232.
- Buckley LJ. 1980. Changes in RNA, DNA, and protein content during ontogenesis of the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) and the effect of starvation. *Fish Bull USA.* 77: 703-708.
- Buratti C, Díaz de Astarloa JM, Hüne M, Irigoyen A, Landaeta M, et al. 2020. *Engraulis anchoita*. International Union for Conservation of Nature; The IUCN red List of Threatened Species. 12: 1-10.
- Buckley LJ. 1984. RNA/DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Mar Biol.* 80: 291-298.
- Cabana G, Rasmussen JB. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93: 10844-10847.
- Caldarone EM, Wagner M, St Onge-Burns J, Buckley LJ. 2001. Protocol and guide for estimating nucleic acids in larval fish using a fluorescence microplate reader. *Northeast Fish Sci Cent Ref Doc.* 1-11.
- Caldarone EM, Clemmesen CM, Berdalet E, Miller TJ, Folkvord A, Holt GJ, Olivar MP, Suthers IM. 2006. Intercalibration of four spectrofluorometric protocols for measuring RNA/DNA ratios in larval and juvenile fish. *Limnol Oceanogr Meth.* 4: 153-163.
- Campana SE, Jones CM. 1992. Analysis of otolith microstructure data. Otolith microstructure examination and analysis. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci.* 117: 73-100.
- Carreto JI, Benavides HR, Negri RH, Glorioso PD. 1986. Toxic red tide in the Argentine Sea: phytoplankton distribution and survival of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax excavata* in frontal area. *J Plankton Res.* 8: 15-28.



- Castello L, Castello JP. 2003. Anchovy stocks (*Engraulis anchoita*) and larval growth in the SW Atlantic. *Fish Res.* 59: 409-421.
- Ciancio JE, Bartes S, Fernández S, Harillo C, Lancelotti J. 2020. Energy density predictors for argentine anchovy *Engraulis anchoita*, a key species of the Southwestern Atlantic Ocean. *Trans Am Fish Soc.* 149: 204-212.
- Ciechomski JD, Weiss G. 1974. Estudios sobre la alimentación de larvas de la merluza, *Merluccius hubbsi* y de la anchoíta, *Engraulis anchoita* en el mar. *Physis.* 33: 199-208.
- Ciechomski JD. 1966. Development of the larvae and variations in the size of the eggs of the Argentine anchovy, *Engraulis anchoita* (Hubbs and Marini). *ICES J Mar Sci J Cons.* 30: 281-290.
- Clemmesen CM. 1994. The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. *Mar Biol.* 118: 377-382.
- Clemmesen CM, Sánchez R, Wongtschowski C. 1997. A regional comparison of the nutritional condition of SW Atlantic anchovy larvae, *Engraulis anchoita*, based on RNA/DNA ratios. *Arch Fish Mar Res.* 45: 17-43.
- Chícharo MA, Chícharo L, Valdez L, Lopez-Jamar E, Ré P. 1998. Estimation of starvation and diel variation of the RNA/DNA ratios in field-caught *Sardina pilchardus* larvae off the north of Spain. *Mar Ecol Prog Ser.* 164: 273-283.
- Díaz MV, Do Souto M, Peralta M, Pájaro M, Spinelli M, Saraceno M, Balestrini C, Capitanio F. 2016. Comer o ser comido: factores que determinan la condición nutricional de larvas de *Engraulis anchoita* de la población patagónica de la especie. *Ecol Austral.* 26: 120-133.
- Díaz MV, Marrari M, Casa V, Gattás F, Pájaro M, Macchi GJ. 2018. Evaluating environmental forcing on nutritional condition of *Engraulis anchoita* larvae in a productive area of the Southwestern Atlantic Ocean. *Prog Oceanogr.* 168: 13-22.
- Díaz MV, Pájaro M. 2012. Protocolo para la determinación de ácidos nucleicos en larvas de peces. *Inf Invest INIDEP N° 20/2012.* 9 p.
- Díaz MV, Pájaro M. 2013. Estudio de la condición nutricional de larvas de la población bonaerense de anchoíta (*Engraulis anchoita*) en relación con las características hidrográficas del área de crianza. *Rev Invest Desarr Pesq.* 23: 107-127.
- Díaz MV, Do Souto M, Betti P, Temperoni B, Schiariti A, Machinandiarena L, Brown D, Macchi GJ. 2020. Evaluating the role of endogenous and exogenous features on larval hake nutritional condition. *Fish Oceanogr.* 29: 584-596.
- Do Souto M, Capitanio F, Galván D, Macchi G, Díaz MV. 2020. Posición trófica de las larvas de anchoíta capturadas en la estación permanente de estudios ambientales (EPEA). *Inf Invest INIDEP N° 26/2020.* 16 p.
- Do Souto M, Spinelli ML, Brown DR, Pájaro M, Díaz MV, Capitanio F.L. 2018. Benefits of frontal waters for the growth of *Engraulis anchoita* larvae: the influence of food availability. *Fish Res.* 204: 181-188.
- Do Souto M, Brown DR, Leonarduzzi E, Capitanio F, Díaz MV. 2019a. Nutritional condition and otolith growth of *Engraulis anchoita* larvae: the comparison of two life traits indexes. *J Marine Syst.* 193: 94-102.
- Do Souto M, Brown DR, Segura V, Negri R, Temperoni B, Cepeda G, Viñas MD, Capitanio F, Díaz MV. 2019b. Putting the pieces together: recent growth, nutritional condition and mortality of *Engraulis anchoita* larvae in the Southwest Atlantic. *Fish Oceanogr.* 28: 597-611.
- Edwards M, Richardson A. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature.* 430: 881-883.
- Esteves E, Pina T, Chícharo MA, Andrade JP. 2000. The distribution of estuarine fish larvae: Nutritional condition and co-occurrence with predators and prey. *Acta Oecol.* 21: 161-173.
- Fenco Chavesta HA, Molinari G, Vecchia M. 2020. Análisis de Parámetros Físicos de la Campaña “Salud ambiental y plancton en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya en un escenario de Cambio Global” – VA1219. *Inf Invest INIDEP N° 056/2020.* 15 p.
- France RL. 1995. Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. *Limnol Oceanogr.* 40: 1310-1313.
- García A, Cortés D, Ramírez T. 1998. Daily larval growth and RNA and DNA content of the NW Mediterranean anchovy *Engraulis encrasicolus* and their relations to the environment. *Mar Ecol Prog Ser.* 166: 237-245.
- García A, Laiz-Carrión R, Uriarte A, Quintanilla JM, Morote E, Rodríguez JM, Alemany F. 2017. Differentiated stable isotopes signatures between pre-and post-flexion larvae of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) and of its associated tuna species of the Balearic Sea (NW Mediterranean). *Deep-sea Res Pt II.* 140: 18-24.
- Garciaarena AD, Orlando P, Buratti CC. 2019. Resultados de la pesca de anchoíta por la flota comercial durante 2018 estimación de parámetros biológico-pesqueros de interés. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP).



- Guerrero RA, Piola AR. 1997. Masas de agua en la plataforma continental. En: Boschi EE, editor. El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 1. Antecedentes históricos de las exploraciones en el mar y las características ambientales. Mar del Plata. p. 107–118.
- Hansen JE, Martos P, Madirolas A. 2001. Relationship between spatial distribution of the Patagonian stock of Argentine anchovy, *Engraulis anchoita*, and sea temperatures during late spring to early summer. Fish Oceanogr. 10: 193-206.
- Hjort J. 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research. Rap Proces. 10: 1-227.
- Hjort J. 1926. Fluctuations in the year classes of important food fishes. J Cons Int Explor Mer. 1: 5–38.
- Houde ED. 2008. Emerging from Hjort's shadow. J Northwest Atl Fish Sci. 41: 53-70.
- Houde ED, Zastrow CE. 1993. Ecosystem -and taxon- specific dynamic and energetics properties of larval fish assemblages. Bull Mar Sci. 54: 290-335.
- Huang JB, Chiu TS. 1998. Seasonal and hydrographic variations of ichthyoplankton density and composition in the Kuroshio edge exchange area off northeastern Taiwan. Zool Stud. 37: 63–73.
- Hunter R. 1984 Feeding ecology and predation of marine fish larvae. En: Lasker R, editor. Marine Fish Larvae. Morphology, Ecology and Relation to Fisheries. Seattle: University Washington Press. p. 33-77.
- Kling GW, Fry B, O'Brien WJ. 1992. Stable isotopes and planktonic trophic structure in arctic lakes. Ecology. 73: 561-566.
- Laiz-Carrión R, Gerard T, Suca JJ, Malca E, Uriarte A, Quintanilla JM, et al. 2019. Stable isotope analysis indicates resource partitioning and trophic niche overlap in larvae of four tuna species in the Gulf of Mexico. Mar Ecol Prog Ser. 619: 53-68.
- Largier JL. 1993. Estuarine fronts: how important are they? Estuaries. 16: 1-11.
- Leggett WC, DeBlois E. 1994. Recruitment in marine fishes: is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages? Neth J Sea Res. 32: 119-134.
- Leonarduzzi E, Brown DR, Sánchez R. 2010. Seasonal variations in the growth of anchovy larvae (*Engraulis anchoita*) on the Argentine coastal shelf. Sci Mar. 74: 267-274.
- Lutz VA, Carreto JI. 1991. A new spectrofluorometric method for the determination of chlorophyll and degradation products and its application in two frontal areas of the Argentine Sea. Cont Shelf Res. 11: 433-451.
- Mann KH, Lazier, JRN. 1996. Dynamics of Marine Ecosystems: Biological-Physical Interactions in the Oceans. Cambridge: Blackwell Publishing. 571 p.
- Moser HG, Pommeranz T. 1999. Vertical distribution of eggs and larvae of northern anchovy, *Engraulis mordax*, and of the larvae of associated fishes at two sites in the Southern California Bight. Fish Bull. 97: 920-943
- Negri RM, Carreto JI, Benavides HR, Akselman R, Lutz VA. 1992. An unusual bloom of *Gyrodinium cf. aureolum* in the Argentine sea: community structure and conditioning factors. J Plankton Res. 14: 261-269.
- Orlando P, Buratti C, Garcíarena AD. 2019. Diagnóstico de la población de anchoita bonaerense (*Engraulis anchoita*) y estimación de captura biológicamente aceptable durante el año 2019. Inf Téc INIDEP N° 24/2019. 29 p
- Pájaro M, Martos P, Leonarduzzi E, Macchi GJ, Diaz MV, Brown D. 2008. Estrategia de puesta de la Anchoita (*Engraulis anchoita*) en el Mar Argentino Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay. INIDEP Inf Téc INIDEP N° 11/2008. 14 p.
- Palomera I. 1991. Vertical distribution of eggs and larvae of *Engraulis encrasicolus* in stratified waters of the western Mediterranean. Mar Biol. 111: 37-44.
- Pepin P, Dower JF. 2007. Variability in the trophic position of larval fish in a coastal pelagic ecosystem based on stable isotope analysis. J Plankton Res. 29: 727-737.
- Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. Annu Rev Ecol Evol Syst. 18: 293-320.
- Post DM. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. Ecology. 83: 703-718.
- R Development Core Team., 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rodríguez JM, Cabrero A, Gago J, Guevara-Fletcher C, Herrero M, Hernandez de Rojas A, Saborido-Rey F. 2015. Vertical distribution and migration of fish larvae in the NW Iberian upwelling system during the winter mixing period: implications for cross-shelf distribution. Fish Oceanogr. 24: 274-290.
- Sato NE, Hernández D, Viñas MD. 2011a. Hábitos alimentarios de las larvas de *Engraulis anchoita* (Hubbs y Marini, 1935) en las aguas costeras de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Lat Am J Aquat Res. 39: 16-24.
- Sato NE, Hernández D, Viñas MD. 2011b. Hábitos alimentarios de *Sagitta friderici Ritter-Zahony* en las aguas costeras de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Boletín de Investi Mar Cost. 40: 59-74.



- Sabatini M. 2004. Environmental features, reproduction and feeding of hake (*Merluccius hubbsi*) and anchovy (*Engraulis anchoita*) in the Patagonian spawning ground. Synthesis and perspectives. *Rev Invest Des Pesq.* 16: 5-25.
- Sánchez RP, Manazza GO. 1994. Aspects of feeding ecology of larval anchovy, *Engraulis anchoita*, in relation with patagonian tidal frontal systems. *Frente Marit.* 15: 51-66.
- Sánchez RP. 1995. Patrones de distribución espacio-temporal de los estadios embrionarios y larvales de la anchoíta (*Engraulis anchoita* Hubbs y Marini) a micro y macroescala, su relación con la supervivencia y el reclutamiento [PhD thesis]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 630 p.
- Sato NE, Hernández D, Viñas MD. 2011. Hábitos alimentarios de las larvas de *Engraulis anchoita* (Hubbs y Marini, 1935) en las aguas costeras de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Lat Am J Aquat Res.* 39: 16-24.
- Sharp Z. 2017. Principles of Stable Isotope Geochemistry (Prentice Hall).
- Smith KA, Suthers IM. 1999. Displacement of diverse ichthyoplankton assemblages by a coastal upwelling event on the Sydney shelf. *Mar Ecol Prog Ser.* 176: 49-62.
- Somarakis S., Nikolioudakis N. 2007. Oceanographic habitat, growth and mortality of larval anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the northern Aegean Sea (eastern Mediterranean). *Mar Biol.* 152: 1143-1158.
- Tanaka H, Yoneda M, Kitano H, Kawamura K, Imanaga Y, Matsuyama M, Okamura K, Ohshimo S. 2016. Stable isotope evidence for income resource allocation to egg production in the Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. *Mar Biol.* 163: 1-28.
- Theilacker GH, Bailey KM, Canino MF, Porter SM. 1996. Variations in larval walleye pollock feeding and condition: a synthesis. *Fish Oceanogr.* 5: 112-123.
- Uriarte A, García A, Ortega A, de la Gándara F, Quintanilla J, Laiz-Carrión R. 2016. Isotopic discrimination factors and nitrogen turnover rates in reared Atlantic bluefin tuna larvae (*Thunnus thynnus*): effects of maternal transmission. *Sci Mar.* 80: 447-456.
- Viñas MD, Ramírez FC. 1996. Gut analysis of first-feeding anchovy larvae from Patagonian spawning area in relation to food availability. *Arch Fish Mar Res.* 43: 231-256.
- Viñas MD, Negri RM, Cepeda GD, Hernández D, Silva R, Daponte MC, Capitanio FL. 2013. Seasonal succession of zooplankton in coastal waters of the Argentine Sea (Southwest Atlantic Ocean): prevalence of classical or microbial food webs. *Mar Biol Res.* 9: 371-382.
- Wan R, Wu Y, Huang L, Zhang J, Gao L, Wang N. 2010. Fatty acids and stable isotopes of a marine ecosystem: study on the Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*) food web in the Yellow Sea. *Deep-Sea Res Pt II.* 57: 1047-1057.