

NFR sluttrapport for prosjektet 108103/122

“Otolitt mikrostruktur hos sild, presisjon, nøyaktighet og anvendelse”

1. Prosjektansatte

Dr. scient. Arild Folkvord har vært prosjektansatt forsker (post doc.) gjennom hele prosjektperioden.

2. Faglig beskrivelse

Bakgrunn

Dannelsen av årlige strukturer i fiskeskjell og øresteiner (otolitter) har vært kjent siden begynnelsen av dette århundre. Denne kunnskapen la grunnlaget for at Hjort (1914) kunne dokumentere variasjoner i årsklassestyrke hos norsk vårgytende sild, og Dahl (1907) kunne skille ulike gytepopulasjoner av sild i nordøst Atlanteren. Allerede i 1910 foreslo Lea at de årlige soner i sildeskjellene kunne brukes til å tilbakeberegne tidligere fiskestørrelse og tilvekst (Lea 1910). Disse metodene har dannet grunnlaget for alders- og vekstberegninger brukt i dagens fiskeriforvaltning. Oppdagelsen av tilsynelatende daglig sonedannelse (otolitt mikrostruktur) i otolittene, åpnet nye muligheter til å undersøke faktorer som innvirker på variasjoner i årsklassestyrke (Panella 1971), ved at antall og bredde på dagsonene kunne brukes til å estimere alder og tilvekst hos fiskelarver og -yngel.

Silda har demersale egg og miljøbetingelsene til egg og tidlige larvestadier vil dermed i stor grad være avhengig av foreldrefiskenes valg av gytested og -tidspunkt. Det er tidligere påvist sesongvariasjoner i eggstørrelse hos sild, og disse forskjellene manifesterer seg også i larvenes otolitt mikrostruktur som forskjeller i avstanden mellom otolittkjernen og klekkingen samt størrelsen av de påfølgende innerste sonene (Moksness & Fossum 1991). Studier av norsk vårgytende sild og høstgytende sild fra Nordsjøen, har vist at otolitt mikrostruktur-analyse kan anvendes i rekrutteringsforskning og bestandsforvaltning og -karakterisering (Moksness 1992).

Det fysiske miljøet og ernæringsforholdene for larvene varierer mellom ulike gytefelt og oppvekstområder, og vil resultere i ulik og varierende larve- og otolittvekst. Det finnes bl. a. forskjeller i temperaturforholdene mellom sørlige og nordlige gytefelt til Norsk vårgytende sild som kan resultere i larver med ulikt otolittvekstmønster. Det er imidlertid usikkert i hvilken grad de ulike miljø- og ernæringsforholdene påvirker otolittveksten i forhold til den øvrige kroppstilveksten. Presisjonen og nøyaktigheten i informasjonen fra otolittene er også av avgjørende betydning om hvorvidt otolitt mikrostruktur får en utbredt anvendelse (Geffen 1982; Campana & Moksness 1991).

Hovedmål for dette prosjektet har derfor vært:

Å videreutvikle otolitt mikrostruktur informasjon som et verktøy for å studere rekrutteringsmekanismer og for å kunne skille bestander og komponenter hos sild (*Clupea harengus*)

Delmålene i prosjektet har vært:

I) Undersøke data kvalitet i otolitt mikrostruktur

- a) Undersøke om klekkingstørrelse og -dannelse er avhengig av inkuberingstemperatur
- b) Undersøke om sildelarver generelt danner første sone i samme stadium i larveutviklingen
- c) Undersøke om sildelarver generelt danner daglige soner etter påbegynt sonedannelse
- d) Undersøke om sonebredde reflekterer somatisk tilvekst hos sildelarver

II) Undersøke forskjeller i vekstmønster i otolitten til larver fra ulike bestander

- a) Undersøke betydningen av bestandsopphav på vekstmønsteret i otolitten
- b) Karakterisere otolittvekstmønsteret til ulike bestander og bestandskomponenter av sild

Hoveddelen av den eksperimentelle delen av prosjektet ble gjennomført våren 1995 og 1996, med et mindre supplerende forsøk våren 1997. Eggmateriale fra Norsk vårgytende sild der foreldrefisken var samlet inn ved gytefeltet på Karmøy, ble brukt i alle laboratorieforsøkene. Våren 1995 ble temperatureffekter på otolittvekst undersøkt. Ett forsøk var viet betydningen av inkuberingstemperaturen på otolittstørrelse ved klekking og tidlig i larvestadiet. Dette forsøket var lagt opp med et faktorielt design der også effekten av morfisk og farfisk kunne estimeres på de målte variablene. I det andre forsøket ble sildelarvene dyrket opp ved fire ulike temperaturkombinasjoner, og larvene ble badmerket to ganger med 14 dagers mellomrom med fargestoffet alizarin complexone for å få innfarging i otolittene (Tsukamoto et al. 1989). I dette forsøket undersøkte vi daglig sonedannelse hos larvene, samt koblingen mellom somatisk tilvekst og otolittvekst. I 1996 ble et tilsvarende forsøk gjennomført, men denne gangen varierte vi mattilbudet (byttedyrtettheten) i stedet for temperaturen. Våren 1997 gjennomførte vi et forsøk der vi undersøkte betydningen av utsatt startføring på sonedannelse i øresteinene. Dette forsøket ble gjennomført ved to ulike temperaturer. Alle forsøkene forløp i hovedtrekk etter planen. Det er totalt tatt ut over to tusen larver fra forsøkene der otolittene er ferdig opparbeidet/montert. Til sammen er nærmere seks tusen otolitter blitt analysert i løpet av prosjektperioden. I tilknytning til forsøkene ble også andre aspekter enn otolitt mikrostruktur undersøkt. Det ble bl.a. tatt ut larver til RNA:DNA analyser for å underbygge de observerte forskjellene i somatisk vekst og otolittvekst. I tillegg ble larvemateriale samlet inn fra mesokosmos og felt, ferdig analysert med hensyn på otolitt mikrostruktur og RNA:DNA. Noe av dette materialet var samlet inn i forbindelse med NFR prosjektet I.501.024 "Fiskeøkologiske undersøkelser på et gytefelt for Norsk vårgytende sild". Fra det strategiske programmet 108920/120 "Teori- og eksperimentbasert studie av rekruttering hos marin fisk" var larver fra høstgytende sild dyrket i laboratoriet tilgjengelig for otolittanalyser.

Resultater

Otolittstørrelsen ved klekking var klart påvirket av inkuberingstemperaturen, og både sagitta og lapillus (to av otolittparene) var større ved lavere temperatur (Fig. 1). Ved klekking var lapillus og sagitta omlag like store, men fra klekking til slutten av plommesekkstadiet (EYS) var det kun en liten økning ($< 1\mu\text{m}$) i lapillus diameter ved alle temperaturene. I sagitta som er den mest brukte otolitten i aldersstudier hos sild, var det ingen merkbar økning i størrelse ved den

laveste temperaturen mens veksten mellom klekking og EYS var høyere ved høyere temperatur (Fig. 1a). Ved EYS var fremdeles lapillus størst ved laveste temperatur, mens sagitta var blitt

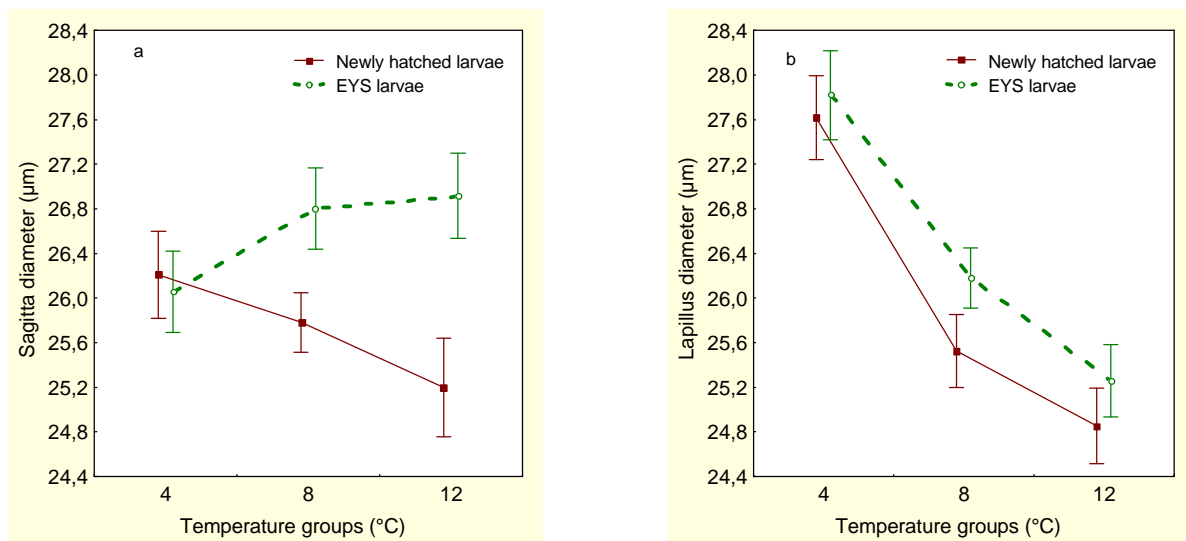


Fig. 1. Otolittstørrelse (i μm) ved klekking (hatching) og ved slutten av plommesekk stadiet (EYS) ved respektive temperaturer, a) sagitta b) lapillus. 95% konfidensintervall er angitt.

Noen av larvene inkubert ved 12°C ble føret videre, og den observerte klekkingen i sagitta (hatch check) hos disse larvene hadde en størrelse som var større enn diameteren ved klekking og mindre enn diameteren ved EYS (Fig. 2). Ved 12°C ble dannelsen av klekkingen i sagitta beregnet til å finne sted 1-2 dager etter klekking. I lapillus var det ikke mulig å detektere klekkinger, og den lave og til dels variable tilveksten i denne otolitten gjør at den er av begrenset nytte i aldersstudier hos sild.

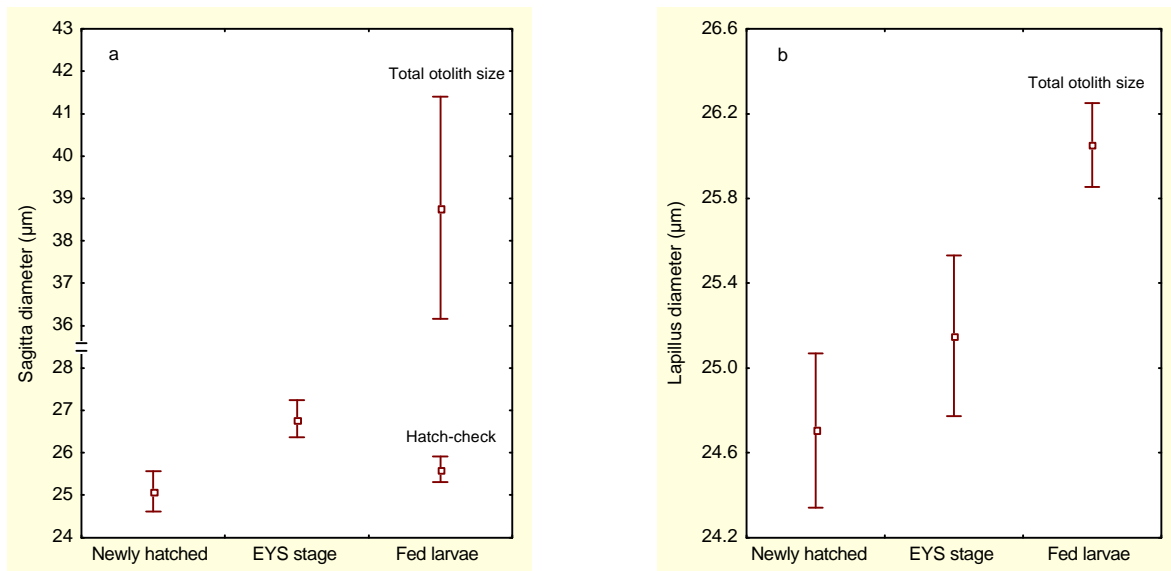


Fig. 2. Otolitt diameter (med 95% konfidensintervall) ved ulike stadier i 12°C gruppen, a) sagitta, b) lapillus. Klekking diameteren (hatch check) er angitt for sagitta til de førede larvene (alder ca. 19 dager). (legg merke til brutt y-akse i Fig. a).

Temperaturen hadde stor innvirkning på lengde- og otolittveksten hos sildelarvene (Fig. 3). Larvene dyrket ved 4°C hadde en meget lav gjennomsnittlig daglig tilvekst i sagitta ($< 0,2 \mu\text{m}$),

og dette er under deteksjonsgrensen for vanlig lysmikroskopi. Reduksjonen i temperaturen fra 12 til 8°C hadde tilsynelatende større effekt på otolittveksten enn lengdevæksten (Fig. 3).

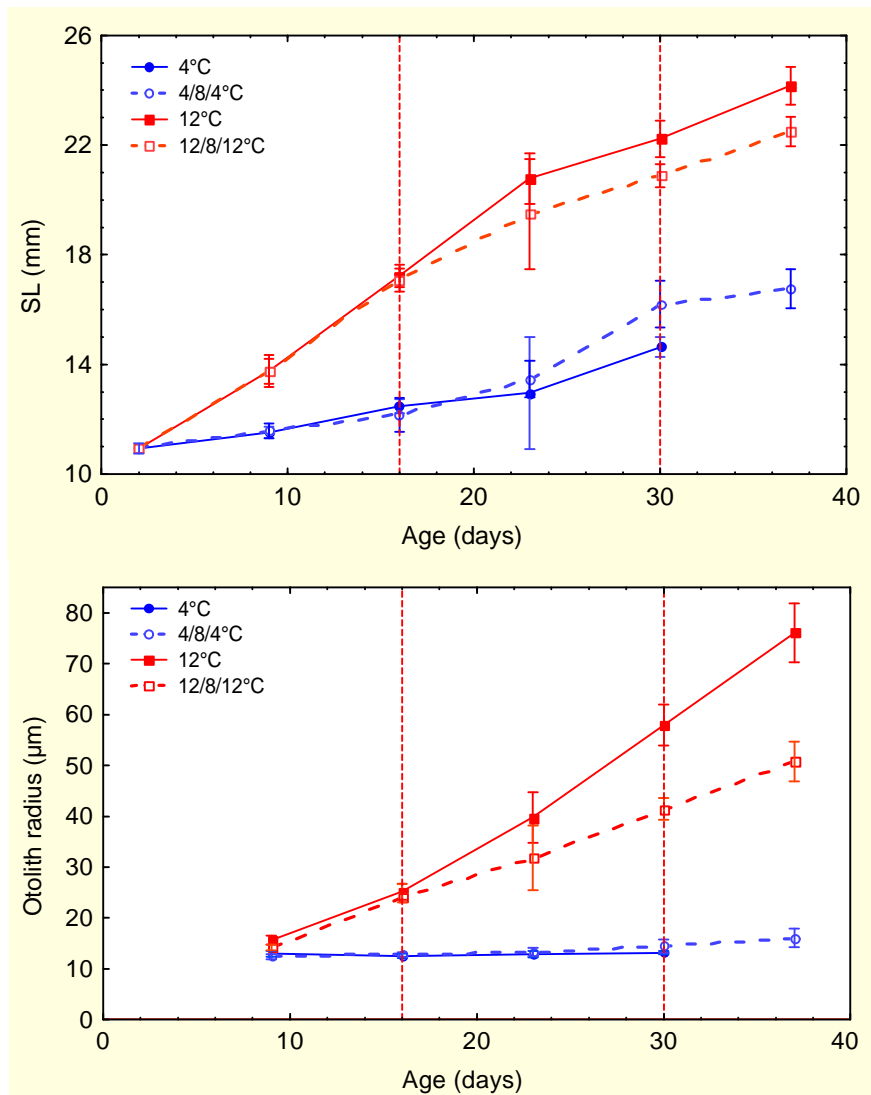


Fig. 3. Gjennomsnittlig lengde og otolitradius (med standardavvik) ved alder hos sildelarver dyrket ved ulike temperaturregimer. Vertikale linjer indikerer tidspunkt for alizarinbehandling og temperaturendring.

Larvegruppene dyrket ved 4°C hadde en daglig sonedannelsesrate betydelig under 1. I gjennomsnitt hadde 4°C gruppen under to soner ved dag 30 etter klekking, og tidspunkt for dannelse av første sone var tydelig påvirket av temperaturen i larvestadiet. Gruppen dyrket ved 12°C la imidlertid i gjennomsnitt ned en sone per dag, mens gruppen som ble overført fra 12 til 8°C også hadde en sonedannelsesrate under en (Fig. 5). Noe av variabiliteten i antall observerte soner mellom alizarinmerkene skyldes muligens at innfargingene i otolitten ofte fordelte seg over flere soner (dager).

Veksten til sildelarvene var også sterkt avhengig av mattilgangen i karene. Larver som hadde en nominell tetthet av 1200 byttedyr per liter hadde tre ganger så stor lengdetilvekst som larvene som hadde 40 byttedyr per liter i løpet av forsøket (Fig. 4). Otolittveksten reflekterte til en viss grad lengdevæksten, men var mer eksponensiell enn lineær, og økte relativt mer utover i forsøket (Fig. 4). Gruppene som hadde hver sin periode med høy og lav byttedyrtetthet de fire første

ukene med fôring (HLH og LHL), var like lange og hadde like store otolitter ved dag 32. Det at det ikke ble funnet en bestemt kritisk periode der sildelarvene var spesielt utsatt for sultrelatert dødelighetsrisiko, kan tyde på at sildelarvene har en god kapasitet til å motstå perioder med lav byttedyrtilgang tidlig i larvestadiet.

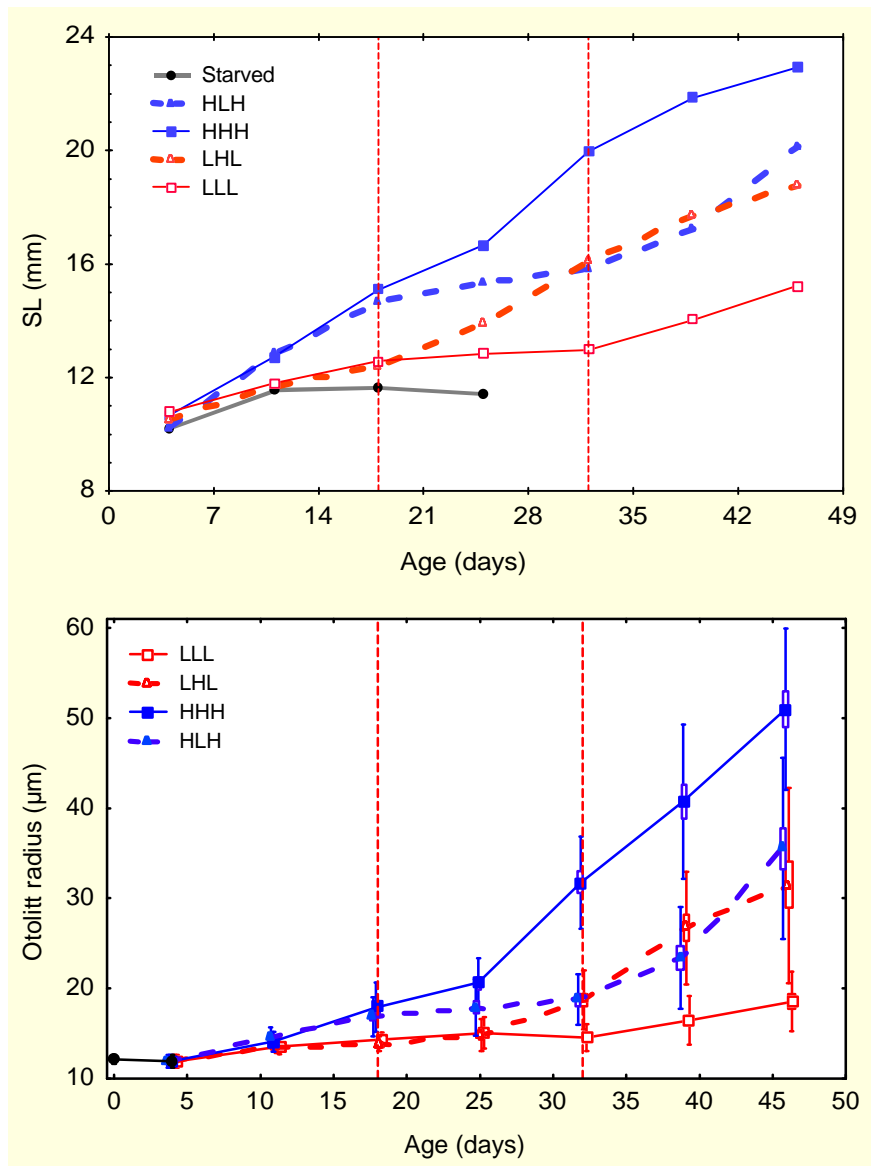


Fig. 4. Gjennomsnittlig lengde og otolitradius (med standardavvik) ved alder hos sildelarver dyrket ved ulike byttedyrregimer ($L=40$ dyr per liter, $H=1200$ dyr per liter). Vertikale linjer indikerer tidspunkt for alizarinbehandling og endring i byttedyrtetthet.

Sonedannelsen var tilnærmet 1 per dag etter ca 10 dager for larvegruppen som hadde høy byttedyrtetthet (HHH) gjennom hele forsøket (Fig. 6). Alle gruppene hadde en sonedannelsesrate under en de første to ukene etter klekking, og for øvrig var den gjennomsnittlige sonedannelsesraten mindre enn én i perioder med lav byttedyrtetthet (og lengde vekstrater under 0,2 mm per dag). Tidspunkt for dannelse av første tydelige sone var etter dag 10 for gruppene med høy byttedyrtetthet i den første perioden, mens blant gruppen som hadde lav byttedyrtetthet gjennom hele forsøket (LLL), var det larver som ikke hadde tydelige soner ved dag 30.

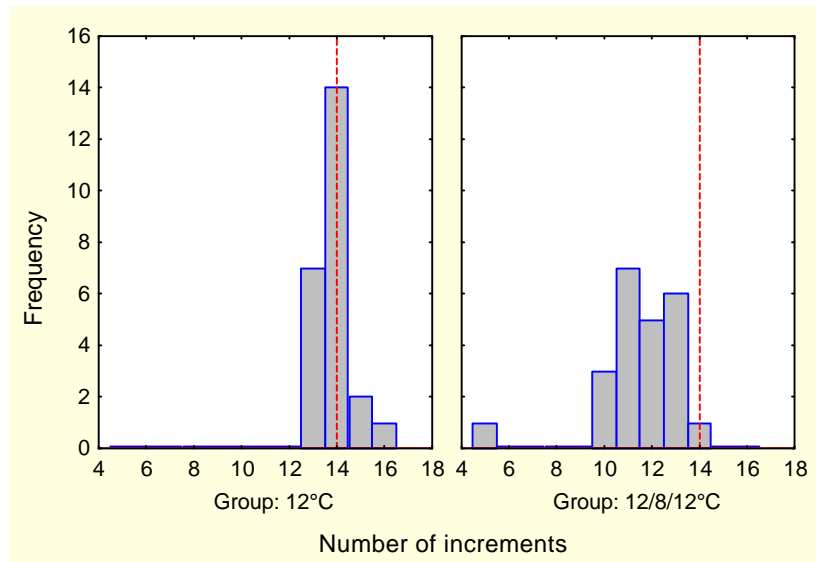


Fig. 5. Antall soner mellom de to alizarinmerkene hos larver dyrket ved konstant (12°C) og ved varierende temperatur (12 og 8°). Vertikale linjer indikerer sonetall tilsvarende daglig sonedannelse (14 dager).

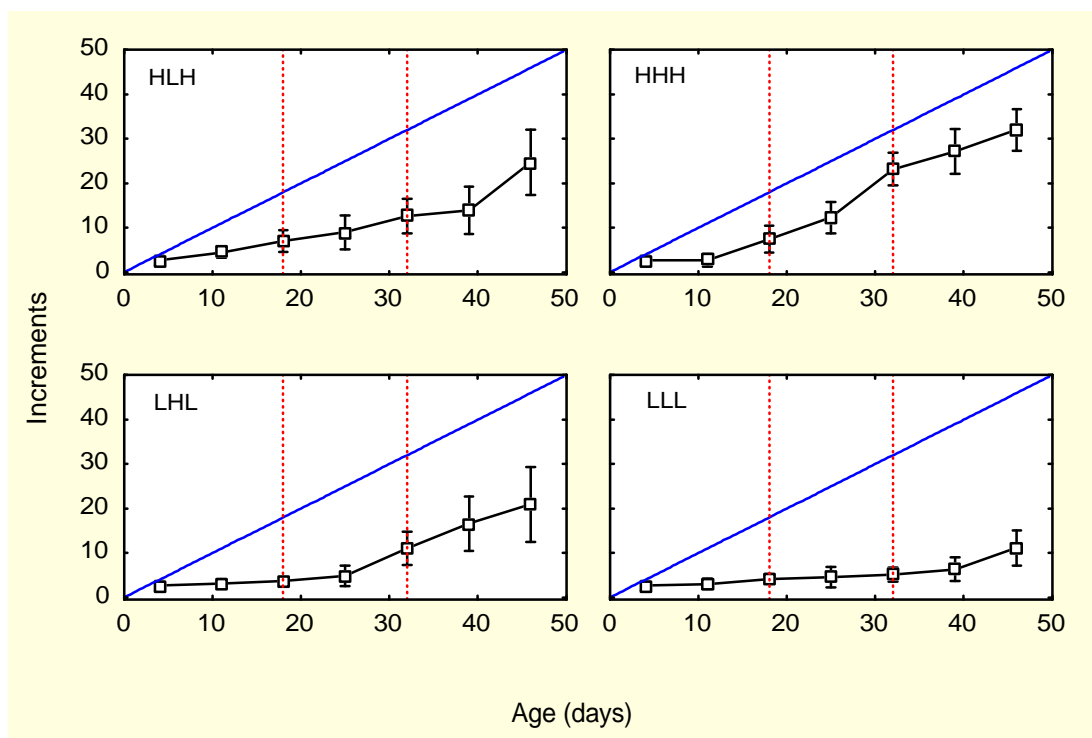


Fig. 6. Antall soner (increments) hos sildelarver av ulike aldre fra grupper med ulike fôringsregimer. ($L=40$ dyr per liter, $H=1200$ dyr per liter). Vertikale linjer indikerer tidspunkt for alizarinbehandling og endring i byttedyrtetthet. De skrå linjene representerer $y=x$ (tilsvarende en sone per dag fra første dag).

En oppsummering av 1996 forsøket viser at 92,1% av variasjonen i en faktoranalyse ble forklart med størrelsesmålene fordelt langs første akse og vekstmålene langs andre akse (Fig. 7). Vekstmålene og størrelsesmålene er tilnærmet ukorrelerte i dette forsøket. Pilene i figuren antyder ulike tilfelle av manglende overensstemmelse mellom otolittvekst og sonedannelse i forhold til alder og andre vekstmå. I det første tilfellet (pil 1) er veksten av otolittradius i større grad enn de andre somatiske vekstmålene korrelert med første akse, dvs størrelse. Dette henger

sammen med at otolittveksten er relativt lav etter klekking i forhold til de andre vekstmåene. Dessuten er otolittveksten senere i utviklingen høyere enn i perioden rett etter klekking. For det andre (pil 2) er sonedannelsesraten korrelert med både første akse (størrelse) og andre akse (vekst). Dette skyldes flere forhold, bl. a. at der "mangler" soner de to første ukene etter klekking, og i tillegg er det ikke mulig å detektere soner hos svært saktevoksende larver. For det tredje (pil 3) er antall soner sterkere korrelert med ulike størrelsesmå enn alder. Dette er også avspeiling av at sonedannelsen opphører ved meget lav somatisk tilvekst.

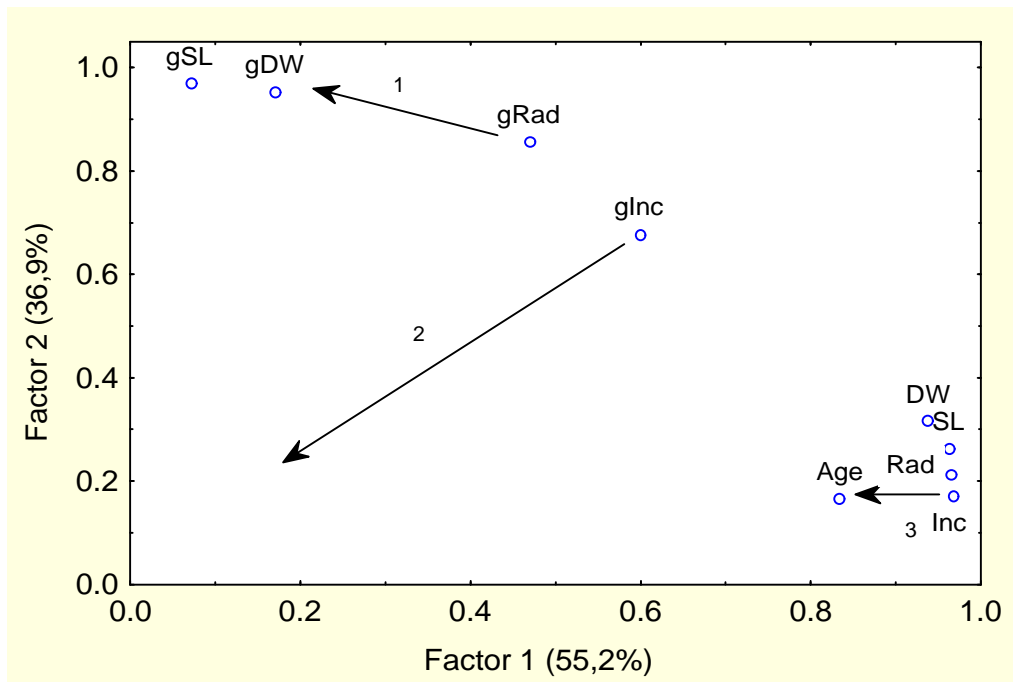


Fig. 7. Factor loadings plot fra faktoranalyse. Variablene brukt i analysen er alder (age), tørrvekt (DW), lengde (SL), sagitta radius (Rad), sonetall (Inc), samt deres respektive vekstrater (med g-prefiks). Pilene representerer hypotetisk plassering av respektive variable (gRad, gInc og Inc) der soneantall og -bredde fullt ut representerer alder og tilvekst. Andelen av variasjonen i datamaterialet forklart langs de respektive aksene er angitt.

Larvens tidligere vekst- og miljøhistorie avleires i otolitten, og det fremgår bl. a. av avstanden til alizarinmerkene i forsøkene med gjentatt merking (Fig. 8). Forholdet mellom avstanden fra kjernen til ytterste alizarinmerke delt på avstanden fra kjernen til innerste alizarinmerke relatert til avstanden fra kjernen til innerste alizarinmerke viser klare forskjeller mellom gruppene, spesielt i temperaturforsøket. En endring av temperaturen på 4°C i en to ukers periode medførte at det var ingen overlapp i merkemønsteret mellom larvene. Et skifte i byttedyrtetthet fra 40 til 1200 byttedyr per liter over en to ukers periode resulterte også i en endring av merkemønsteret, men i dette forsøket var det en stor grad av overlapp i merkemønster mellom larver fra de ulike gruppene. Som forventet viser gruppene som har hatt samme behandling frem til første alizarinbehandling samme fordeling av indre alizarinmerke (12 og 12/8, HLH og HHH, LHL og LLL), mens de skiller seg fra de gruppene som har hatt annen temperatur eller byttedyrtetthet i samme periode (Fig. 8).

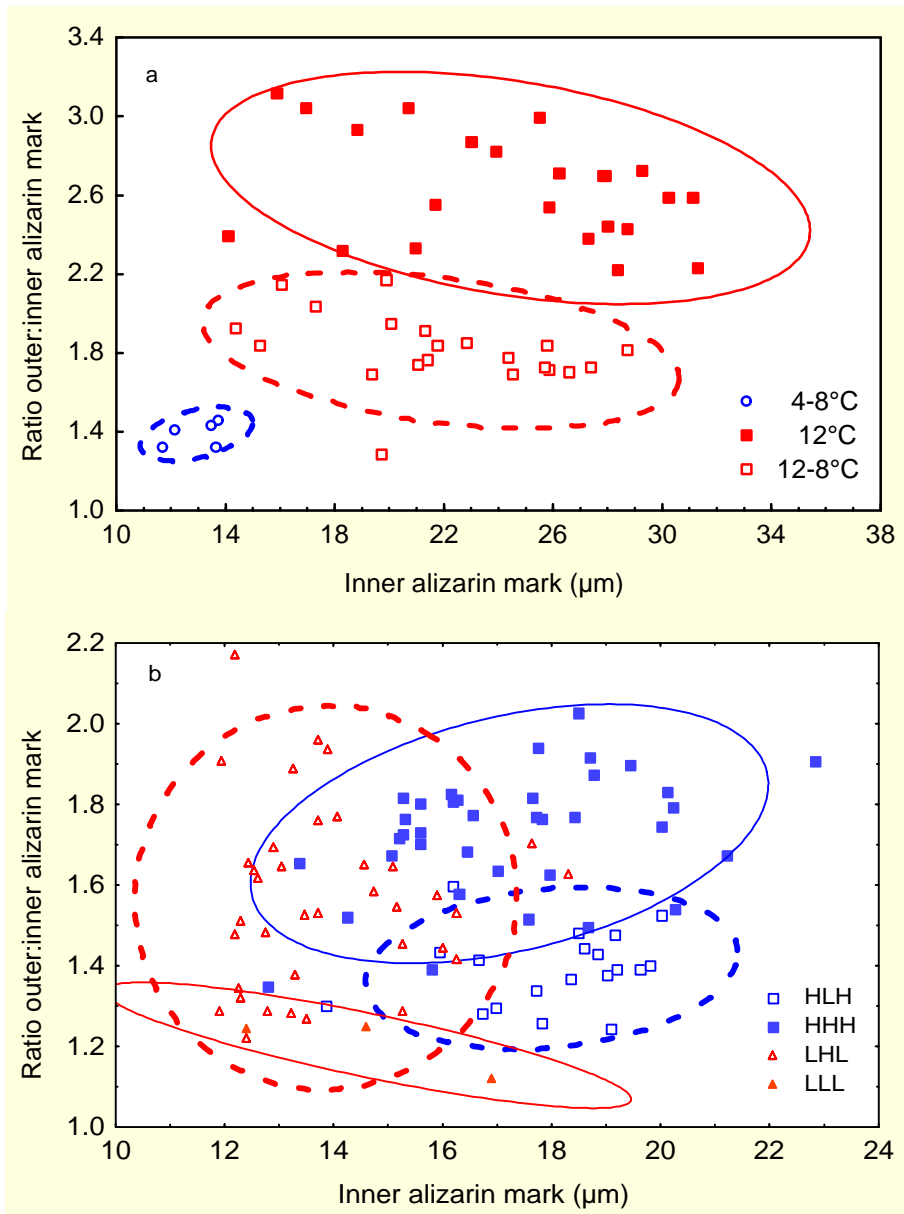


Fig. 8. Forholdet mellom ytre:indre (outer:inner) alizarinmerke versus størrelsen av indre alizarinmerke (radius) i a) temperaturforsøket (1995) b) byttedyrtetthetsforsøket (1996). 90% konfidensellipser er vist.

Når en foretar gjentatt innsamling av larver fra en populasjon, kan sonemønstret til larvene samlet inn i de ulike tidsrommene også fortelle noe om dødelighet og redskapsunnvikelse i perioden. Et eksempel kan vises fra forsøkene i Flødevigen der to bassenger ble gitt ulike forhold slik at larvene (fra høstgytende sild) i det ene bassenget fikk relativt gode ernæringsforhold i starten, mens larvene fra det andre bassenget hadde dårlige forhold. Sonevekstmønstret til sildelarvene i bassenget med dårlige forhold hadde en lav otolittvekst de første ukene før forholdene bedret seg (Fig. 9a). I dette bassenget var larvene som overlevde helt til slutt kjennetegnet av at de nokså tidlig i forsøket var større enn de øvrige larvene, og det indikerer en størrelsesavhengig dødelighet tidlig i forsøket. Disse overlevende larvene kan kalles "vinnerne" i populasjonen. I det andre bassenget hadde larvene en høyere otolittvekst de første ukene enn i det første bassenget, og den avtok etterhvert som forholdene ble dårligere (Fig. 9b). I dette bassenget kunne man se at unnvikelse gjorde seg gjeldende etter ca 3-4 uker ettersom de larvene man fanget med håv i løpet av forsøket hadde et annet otolittvekstmønster enn de

larvene man fanget til slutt ved nedtapping av bassenget. I tillegg var det liten forskjell i otolittvekstmønsteret de første ukene, og det tyder på at forholdene var tilfredsstillende for de fleste larvene. Et unntak er de larvene som ikke var blitt store nok til å unnvike håven og som ble samlet ved siste håvsamling i bassenget (alder 50-59). Disse var ganske tidlig mindre enn resten av larvene og representerer “taperne” i populasjonen.

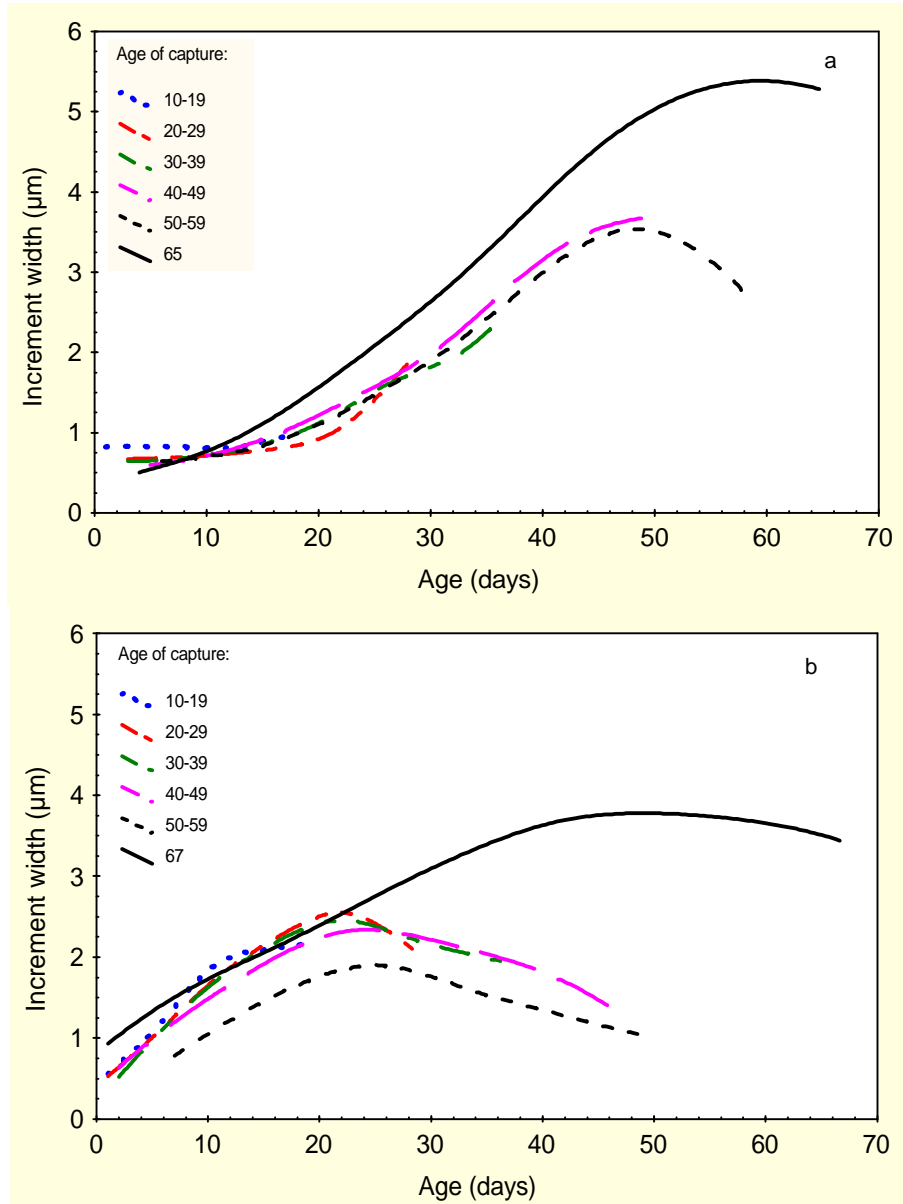


Fig. 9. Gjennomsnittlig sonebredde ved alder hos sild i to bassenger, a) med gode forhold i starten av forsøket, b) med dårlige forhold i starten av forsøket. De ulike linjene representerer verdier for larver fanget i ulike tidsintervall i bassengene. Alle larvene ble fanget med håv unntatt ved siste prøvetaking i hvert basseng, der larvene ble samlet inn etter nedtapping.

Det er tidligere dokumentert forskjeller i otolittvekstmønster mellom larver av vårgytende og høstgytende sild (Fossum & Moksness 1993). Det er i løpet av prosjektet blitt dokumentert at en del av forskjellene skyldes ulike eggstørrelser og stadiavhengig larvestørrelse. Foreløpige analyser tyder ikke på vesentlige forskjeller i sonebredde mellom hurtigvoksende sildelarver av ulike bestander ved samme temperatur. De observerte forskjellene i otolittvekstmønster mellom

larver av vårgytende og høstgytende sild i naturen er mest sannsynlig en kombinasjon av både forskjeller i temperatur og ernæringsforhold. Innen en bestand kan også forskjeller i oppvekstmiljø resultere i ulike otolittvekstmønstre (Stenevik et al. 1996). Basert på våre forsøk forventer vi at de forskjeller man observerte mellom larver av Norsk vårgytende sild fra sørlige og nordlige gytefelt til en stor grad skyldes forskjeller i oppveksttemperatur for de to larvegruppene.

Referanser

- Campana, S.E. 1990. How reliable are growth back-calculations based on otoliths? — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 2219-2227.
- Campana, S.E. & E. Moksness 1991. Accuracy and precision of age and hatch date estimates from otolith microstructure examination. — *ICES Journal of marine Science* 48: 303-316.
- Dahl, K. 1907. The scales of the herring as a means of determining age, growth and migration. — *Report on Norwegian Fishery and Marine Investigations* 7(6).
- Fossum, P. & E. Moksness 1993. A study of spring- and autumn-spawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae in the Norwegian coastal current during spring 1990. — *Fisheries and Oceanography* 2:2, 73-81.
- Geffen, A. 1982. Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (*Clupea harengus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. — *Marine Biology* 71:317-326.
- Hjort, J. 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in light of biological research. — *Rapports et Procès-verbaux des Réunions. Conseil international pour l'Exploration de la Mer* 19: 1-228.
- Lea, E. 1910. On the methods used in herring investigations. — *Conseil Permanent international pour l'Exploration de la Mer, Publ. Circ.* 53: 1-174.
- Moksness, E. 1992. *Otolith microstructure: a new method in recruitment studies and management of herring (Clupea sp.)*. Dr. philos thesis, University of Bergen.
- Moksness, E. & P. Fossum 1991. Distinguishing between field caught spring and autumn spawned herring (*Clupea harengus*) using information in their otolith microstructure. — *ICES Journal of marine Science* 48: 61-66.
- Panella, G. 1971. Fish otoliths; daily growth layers and periodic patterns. — *Science* 173: 1124-1127.
- Stenevik, E.K., P. Fossum, A. Johannessen & A. Folkvord 1996. Identification of larvae of Norwegian spring spawning herring from spawning grounds off south-western Norway applying otolith microstructure analysis. — *Sarsia* 80: 285-292.
- Tsukamoto, K., H. Kuwada, J. Hirokawa, M. Oya, S. Sekiya, H. Fujimoto & K. Imaizumi 1989. Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. — *Journal of Fish Biology* 35: 59-69.

3. Prosjektsammendrag

Fiskens øresteiner, otolitter, inneholder ringer (soner) som i varierende grad gjenspeiler fiskens alder og tidligere veksthistorie. Det er påvist for sild at det normalt legges ned en sone per dag etter 1-2 uker etter klekking. Ved sterkt redusert vekst (< 0,1 mm lengdeøkning per dag) dannes det imidlertid ikke daglige soner som er synlige i lysmikroskop. Daglig sonebredde er

delvis korrelert med fiskens tilvekst, men forholdet mellom somatisk vekst og otolittvekst er temperaturavhengig.

Det er dokumentert at sildelarver med opphav fra ulike områder har ulikt sonemønster i otolittene. Spesielt temperaturen i larvenes omgivelser synes å spille en vesentlig rolle for vekstmønsteret i larveotolittene. Otolittstørrelsen ved klekking er inverst relatert til inkuberings-temperaturen, og dette kan i tillegg til forskjeller i eggstørrelse, være med å bidra til observerte forskjeller i klekkingstørrelse mellom larver av vårgytende og høstgytende sild.

Prosjektet har med kontrollerte forsøk søkt å etterprøve hvilke faktorer som er av betydning for sonedannelse. Prosjektet vil danne grunnlaget for egnet karakterisering av sildepopulasjoner basert på vekstmønsteret i otolitten. En grunnleggende forståelse av underliggende faktorer er nødvendig dersom metoden skal brukes som et rutinemessig verktøy.

4. Vitenskapelige utgivelser

Publikasjonslisten fra prosjektet er lagt ved som eget vedlegg.

6. Andre resultater

I alt seks hovedfagsstudenter har i løpet av prosjektperioden hatt veiledning innen fagfeltet tilhørende prosjektet (fem med avlagt eksamen). Tre av hovedfagsstudentene har hentet materiale til oppgavene fra forsøk gjennomført i regi av prosjektet, mens tre andre hovedfagsstudenter har fått veiledning på annet materiale der otolitt mikrostruktur utgjør en vesentlig del av oppgaven.

Både A. Folkvord og A. Johannessen er blitt medlemmer av det europeiske nettverket "European Fish Ageing Network" (EFAN) i løpet av prosjektperioden. Koordinator for nettverket er E. Moksness. Likeledes er de samme personene involvert i det nye EU-prosjektet "Precision and accuracy of tools in recruitment studies" (PARS). A. Folkvord har også hatt besøk av spanske kollegaer i forbindelse med EU-finansiert forskerutveksling (LSF).

I løpet av prosjektperioden har prosjektmedarbeidere også brukt tid på fremtidige arrangementer. I juni 1998 vil det bli arrangert et internasjonalt symposium: "Second International Symposium on Fish Otolith Research and Application" i Bergen. Leder for symposiet er E. Moksness, og A. Folkvord er med i den lokale arrangementskomiteen. Forrige møte ble holdt i South Carolina, USA, og hadde ca 300 deltakere. Folkvord har i løpet av prosjektperioden også vært deltaker i ICES Working Group i "Recruitment processes" der otolitt mikrostruktur er et av fagområdene det arbeides med.

Sammendrag av de mest sentrale arbeidene

Folkvord, A., K. Rukan, A. Johannessen & E. Moksness 1997. Early life history of herring (*Clupea harengus* L.) larvae in contrasting feeding environments determined otolith microstructure analysis. — *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 250-263.

Newly-hatched autumn-spawned herring larvae (*Clupea harengus* L.) were released in two 2500 m³ outdoor mesocosms and reared over a two month period. Hydrographic conditions were similar in the two mesocosms, but the average plankton density was initially more than ten times higher in Mesocosm B compared to Mesocosm A (>1 l⁻¹ versus <0.1 l⁻¹). Half-way through the experiment the feeding conditions reversed with three times higher average densities in Mesocosm A than in Mesocosm B (>3 l⁻¹ versus ~ 1 l⁻¹). Herring larvae were sampled with a 0.3 m² two-chambered net bi-weekly, and survivors were harvested by draining the mesocosms at the end of the experiment. Otolith growth trajectories of individual larvae were determined by relating radial otolith size with number of increments from the outer edge of the otolith (days before capture). The increment widths during the first three weeks after hatching, including the first-check size, were generally wider among larvae from Mesocosm B (relatively good initial feeding conditions) than among those from Mesocosm A (poor initial feeding conditions). The otolith growth pattern also confirmed that the surviving herring in Mesocosm A belonged to the upper size range of larvae in the mesocosm already 2-3 weeks after hatching, while no such trend was found in Mesocosm B. In both mesocosms the otolith size-at-age indicated that with the present sampling gear, herring larvae larger than 20-25 mm were underrepresented in the net samples. The information obtained from otolith-size-at-age is compared with other morphometric and biochemical measures of size and condition of larvae obtained throughout the experiment.

Folkvord, A., L. Ystanes, A. Johannessen & E. Moksness 1996. RNA/DNA ratios and growth of herring (*Clupea harengus*) larvae reared in mesocosms. — *Marine Biology* 126: 591-602.

Autumn-spawned North Sea herring larvae were released in two outdoor mesocosms of 2 500 m³ (A) and 4 000 m³ (B). The mesocosms were monitored for temperature, salinity, oxygen, chlorophyll a, zooplankton and herring larvae abundance. The density of suitable prey for first feeding larvae (mainly copepod nauplii) was initially low in mesocosm A (<0.1 l⁻¹) compared to in mesocosm B (>1 l⁻¹). Half way during the experiment the situation was reversed, with higher densities of prey in mesocosm A (>3 l⁻¹) as compared to mesocosm B (~1 l⁻¹). The average temperature declined steadily in both mesocosms from 18°C at release to 11-12°C at the end of the experiment 60 days later. The RNA:DNA values of individual herring larvae were related to protein growth rates and temperature adjusted according to Buckley (1984). A corresponding DNA growth index (Gdi) was given as: $Gdi = 0.68 \text{ TEMP} + 3.05 \text{ RNA:DNA} - 9.92$. The RNA:DNA based growth indices were significantly correlated with other somatic growth estimates. The average estimated protein growth rate in the two mesocosms followed the same temporal pattern as somatic growth rate, but with a lag of 2 days or more. Residual analysis of the regression of ln RNA versus ln DNA also showed the same temporal pattern as the RNA:DNA ratios, but the shift in condition as estimated by this method occurred more in synchrony with the other somatic growth measures. Larvae in mesocosm A had RNA:DNA values similar to the starvation control kept in the laboratory the first days after release, confirming that larvae in mesocosm A initially were in poor nutritional condition. On the other

hand, the majority of the herring from mesocosm B were characterised as being starving or in poor nutritional condition towards the end of the experiment. The assessment of growth and nutritional condition were in accordance with independent survival estimates which suggested that the majority of the total mortality occurred during the first 15 days in mesocosm A and thereafter in mesocosm B.

Høie, H., A. Folkvord & A. Johannessen (submitted). Maternal, paternal and temperature effects on otolith size of young herring (*Clupea harengus* L.) larvae. — *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*.

Investigations were carried out to clarify the timing of first check formation, and the influence of maternal, paternal, and temperature factors on otolith size of young herring larvae. Three male and three female herring of the Norwegian spring spawning herring stock were used as parental fish in a 3x3 factorial design, resulting in 9 parental combinations. Eggs from each of the combinations were incubated at 4, 8, and 12 °C. Larvae were sampled at two ontogenetic stages; as newly hatched and at the end of the yolk sac (EYS) stage. One group was also reared with wild zooplankton, and sampled during three weeks after hatching, to compare first check size with observed otolith size of unfed larvae.

The first check was deposited 1 - 2 days after hatching and before onset of exogenous feeding at 12 °C. Significant maternal and temperature effects were observed on the size of sagitta and lapillus at hatching, with smaller otoliths at higher temperatures. Larval length had a similar temperature response as the otoliths while larval dry weight followed an opposite trend. Otolith size and larval length and weight were poorly correlated, and a large variability in the otolith data was evident. Temperature influences on the measured variables were also evident at the EYS stage while the maternal influence was not as strong as at hatching. No sagittal growth between hatching and the EYS stage was observed at 4 °C although larval standard length increased. Large variability limits the direct application of the first check size as a reliable tool for discrimination of units within and between fish stocks.

Baduge, S.K., A. Folkvord & A. Johannessen (accepted). Responsiveness of selected condition measures of herring, *Clupea harengus*, larvae to starvation in relation to ontogeny and temperature. — *Environmental Biology of Fishes*.

A controlled laboratory experiment was performed to study the responsiveness of selected growth and condition measures to starvation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae in relation to temperature and size. Two size groups of larvae (10 mm and 14 mm) reared at three temperatures (5°C, 8°C and 11°C) were starved over 5 or 7 days, and the temporal changes in standard length, dry weight, DNA content, relative DNA (% dry weight), RNA content, relative RNA (% dry weight), Fulton's condition factor (CF) and RNA:DNA were assessed and compared with fed controls. Starvation led to decreases in dry weight, CF, RNA content, relative RNA and RNA:DNA while it led to an increase in relative DNA. Higher responsiveness to starvation was observed at higher temperatures, and the magnitude of the changes was higher in 14 mm group. The shortest latency in starvation response was found with respect to RNA:DNA which was length independent in the size range studied. Critical levels in relative DNA can be used (2.2% for 10 mm larvae, 3% for 14 mm larvae) to

differentiate starved larvae from fed larvae, after 3 or 5 days of starvation. RNA:DNA was significantly correlated with average DNA growth, and the temperature adjusted DNA growth index developed ($Gdi = 7.32 \text{ RNA:DNA} + 0.52 T - 20.54$; $r^2 = 0.58$) is useful in estimating individual DNA growth (% day⁻¹) of herring larvae and differentiating fed and starved larvae. RNA:DNA was the most sensitive and suitable condition index studied in detecting early starvation, and growth of herring larvae.

Folkvord, A. G. Blom, A. Johannessen, E. Moksness (in prep.). Growth dependent age estimation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae. (abstract submitted to Otolith Symposium, Bergen June 1998).

A controlled laboratory experiment was carried out to determine growth dependent otolith increment formation in herring larvae under constant and variable feeding regimes. Norwegian spring-spawning herring larvae were reared at 8°C for seven weeks using nominal prey densities of 40 (low) or 1200 (high) prey l⁻¹. Two groups of larvae were offered constant prey levels throughout the experiment (high and low), whereas the prey levels in two other groups were either temporarily increased or decreased. All groups were marked twice at the time of change in prey levels (day 18 and day 32 post hatching) by alizarin complexone immersion. Overall survival in the experiment ranged from 65 to 82%, and daily growth in length ranged from 0.04 to 0.4 mm day⁻¹. Average daily otolith growth in the low prey group was below 0.2 µm day⁻¹, and the apparent daily increment formation rate was significantly below one. The high prey group on the other hand had an increment deposition rate of about one after the first marking, and these increments averaged 1.1 µm. The alizarin marking confirmed that the otolith growth responded to changes in prey densities and larval growth within a few days.

Folkvord, A., A. Johannessen, E. Moksness (in prep.). Temperature dependent otolith growth in herring (*Clupea harengus* L.) larvae.

Larval Norwegian spring-spawning herring were reared at different temperature combinations in the laboratory, and marked twice with a fluorescent dye, alizarin complexone, to estimate otolith size at age and increment deposition rate. A daily increment deposition rate was confirmed in the sagittae of larvae reared at 12°C from day 16 (first marking age), whereas this was not the case for the lapilli. Larvae reared at a constant temperature of 4°C had minimal growth in both the sagittae or lapilli, and apparent number of increments grossly underestimated the true age of the larvae. A reduction in rearing temperature from 12 to 8°C between day 16 and 30 (second marking age), significantly affected sagitta growth and led to an underestimation of 1 to 2 increments over a 14 day period compared to the 12°C control. An increase in rearing temperature from 4 to 8°C on the other hand, had less dramatic effect on otolith growth compared to the 4°C control. Although the relative daily weight increase was similar in both groups transferred to 8°C, the daily otolith growth rate was 4.5 times higher in the group originating from 12°C compared to the group originating from 4°C. The body size versus otolith size relationship was clearly temperature dependent, and a failure to incorporate these temperature effects can bias back-calculated larval sizes based on a common body size versus otolith size relationships.

Johannessen, A., G. Blom & A. Folkvord (in prep.). Differences in otolith and somatic growth between spring and autumn spawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae. (abstract submitted to Otolith Symposium, Bergen June 1998).

Laboratory experiments were conducted on herring (*Clupea harengus* L.) larvae in 500 liter tanks during autumn 1995 and spring 1996. Natural photoperiod for the time of year was simulated in both trials. The larvae were kept at 8 °C, and were fed wild zooplankton; 2 tanks with low prey densities (20 and 40 preys l⁻¹) and another 2 tanks with high prey densities (1200 and 2000 preys l⁻¹). Monitoring of temperature, prey density and mortality was conducted every day, and larval sampling was performed once a week. The durations of the experiments were 35 days in 1995 and 46 days in 1996. Survival percentages were 43 (autumn) and 49 % (spring) in the low density groups, and 85 (spring) and 92 % (autumn) in the high density groups. The mean growth rates in length were 0.06 and 0.10 mm d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, and 0.25 and 0.37 mm d⁻¹ in corresponding high density groups, respectively. Average specific growth rates in weight were 2.6 and 1.4 % d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, respectively, and 6.8 and 7.7 % d⁻¹ in corresponding high density groups. The slopes of the linear regressions between ln dry weight and standard length were higher in autumn spawned larvae than in spring spawned larvae. Mean otolith growth rates were 0.04 and 0.10 µm d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, respectively, and 0.45 and 1.54 µm d⁻¹ in corresponding high density groups. But otolith radii were similar at corresponding lengths in both autumn and spring spawned larvae. We conclude that somatic and otolith growth rates were higher for spring spawned larvae than autumn spawned larvae, and the primary difference between the two experiments is suggested to be the seasonal day length.

Stenevik, E.K., P. Fossum, A. Johannessen & A. Folkvord 1996. Identification of larvae of Norwegian spring spawning herring from spawning grounds off south-western Norway applying otolith microstructure analysis. — *Sarsia* 80: 285-292.

After the stock collapse in the 1960s the main spawning grounds of Norwegian spring spawning herring have been located off the Møre coast (northern grounds) and after 1989 spawning has also occurred at previous important grounds off the south-western coast of Norway (southern grounds). An overall objective of this study is to identify offspring from the different main spawning grounds in their nursery areas several months later. This requires criteria for identification of larval components from the main hatching areas. Peak hatching time at the two main spawning areas differ by approximately one month, being earlier at the northern spawning grounds. Passive drift from the southernmost areas adds another 2-3 months to this time difference until the larvae from the southern spawning grounds reach the spawning grounds off Møre. Otolith microstructure analysis of larvae collected along the drift path of the separate larval populations are used to trace past growth patterns. The results show a significant difference in back calculated increment width at age and in back calculated hatching distribution, and indicate that otolith microstructure can be used to separate components of offspring from the two spawning grounds.

Blom, G., A. Folkvord, A. Johannessen & P. Fossum 1997. Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus*). — *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 370-384.

Data of nutritional condition of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus*) and hydrography collected off the Norwegian coast in 1992-1994 are presented. The seawater temperature was lower in 1994 than in the other years. RNA:DNA ratios increased with increasing larval DW all years, except for larvae sampled south of 62°N in 1994. The RNA:DNA ratios indicated that each year only a small portion ($\leq 0.7\%$) of the larvae were in a starving condition. In 1994, the mean RNA:DNA ratio was significantly higher than in other years, and larvae collected north of 62°N had a higher mean ratio than those collected south of 62°N. RNA:DNA ratios and temperature were negatively correlated in 1992, but in the other years no significant correlations were found. Residuals of $\ln \text{RNA} \nu. \ln \text{DNA}$ and $\ln \text{DW} \nu. \text{SL}$ were poorly correlated all years, but residuals of $\ln \text{RNA} \nu. \ln \text{DNA}$ and $\ln \text{DNA} \nu. \ln \text{DW}$ were negatively correlated all years. Principal component (PC) analysis showed that the RNA:DNA ratio and DNA (% of DW) were correlated with different axes. Abundance data of herring at the early larval and 0-group stages in 1992-1994 indicated a higher mortality in 1994 than in the other years. Our data did not show that the average larval condition was poorer in 1994 than in other years. However, the variability in larval condition was higher in 1994 than in the other years, and the condition of later larval stages was relatively lower in 1994 than in the other years.

Publikasjonsliste

Vitenskapelige arbeider i bøker/tidsskrift med referee:

1. Blom, G., A. Folkvord, A. Johannessen & P. Fossum 1997. Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus*). — *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 370-384.
2. Folkvord, A. & E. Moksness 1995. RNA/DNA ratios and growth of herring larvae. — *Marine Ecology Progress Series* 121: 311-312.
3. Folkvord, A., I.M. Haaland, O. Grahl-Nielsen & A. Johannessen 1996. Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.) larvae off western Norway. — *Sarsia* 80: 299-305.
4. Folkvord, A., L. Ystanes, A. Johannessen & E. Moksness 1996. RNA/DNA ratios and growth of herring (*Clupea harengus*) larvae reared in mesocosms. — *Marine Biology* 126: 591-602.
5. Folkvord, A., K. Rukan, A. Johannessen & E. Moksness 1997. Early life history of herring (*Clupea harengus* L.) larvae in contrasting feeding environments determined otolith microstructure analysis. — *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 250-263.
6. Johannessen, A., G. Blom, A. Folkvord & H. Svendsen 1995) The effect of local wind on the distribution of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae. — Pp. 365-384 in Skjoldal, H.R., C. Hopkins, K.E. Erikstad & H.P. Leinaas (eds.). *Ecology of fjords and coastal waters*. Elsevier, Amsterdam.
7. Moksness, E., K. Rukan, L. Ystanes, A. Folkvord & A. Johannessen 1995. Comparison of somatic and otolith growth in North Sea herring (*Clupea harengus* L.) larvae; evaluation of growth dynamics in mesocosms. — Pp. 119-134 in : Secor, D.H., S.E. Campana & J.M. Dean (eds.). *Fish otolith research and application*. University of South Carolina Press.
8. Stenevik, E.K., P. Fossum, A. Johannessen & A. Folkvord 1996. Identification of larvae of Norwegian spring spawning herring from spawning grounds off south-western Norway applying otolith microstructure analysis. — *Sarsia* 80: 285-292.

Manuskript innsendt/forberedt til vitenskapelige tidsskrift med referee:

1. Baduge, S.K., A. Folkvord & A. Johannessen (accepted). Responsiveness of selected condition measures of herring, *Clupea harengus*, larvae to starvation in relation to ontogeny and temperature. — *Environmental Biology of Fishes*.
2. Håie, H., A. Folkvord & A. Johannessen (submitted). Maternal, paternal and temperature effects on otolith size of young herring (*Clupea harengus* L.) larvae. — *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*.
3. Folkvord, A., A. Johannessen & E. Moksness (in prep.). Temperature dependent otolith growth in Norwegian spring spawning herring larvae.
4. Folkvord, A., G. Blom, A. Johannessen & E. Moksness (submitted). Growth dependent age estimation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae. Abstract innlevert til "Second International Symposium on Fish Otolith Research and Application" i Bergen, juni 1998. Artikler vil bli publisert i *Fisheries Research*.
5. Johannessen, A., G. Blom & A. Folkvord (submitted). Differences in otolith and somatic growth between spring and autumn spawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae.

Abstract innlevert til "Second International Symposium on Fish Otolith Research and Application" i Bergen, juni 1998. Artikler vil bli publisert i Fisheries Research.

6. Blom, G., A. Johannessen, A. Folkvord & F. Midtøy (in prep.). Growth and condition of autumn spawned herring *Clupea harengus* larvae reared at different temperatures and prey densities.

Hovedfagsoppgaver som er gitt i tilknytning til prosjektet:

1. Kristogu Baduge Suneetha (1996). Effects of starvation on selected condition measures including RNA:DNA of herring (*Clupea harengus*) larvae, in relation to temperature and size. 106 s.
2. Hans Høie (1997). Maternal, paternal and temperature effects on otolith size of young herring (*Clupea harengus* L.) larvae: an experimental study. 83 s.
3. Frances Dealie (in prep.). Increment formation in otoliths of herring (*Clupea harengus* L.) related to time of first feeding. (planlagt fullføring i 1998).

Hovedfagsoppgaver relevante for prosjektet som er gitt veiledning i løpet av prosjektperioden:

1. Kjetil Rukan (1996). Tilbakeberegning av vekst hos sildelarver av høstgytende Nordsjøild (*Clupea harengus* L.) basert på otolitt mikrostruktur analyse. 92 s.
2. Erling Kåre Stenevik (1995). Identifikasjon av larvekomponenter fra to gytefelt for Norsk *Clupea harengus* L.) basert på otolitt mikrostruktur analyse. 59 s.
3. Geir Gundersen (1997). Impact of birth-date on early life growth and survival of Muellers pearlsside *Maurolicus muelleri* larvae. 55 s.

Publiserte foredrag fra internasjonale faglige møter:

1. Folkvord, A., K. Rukan, A. Johannessen & E. Moksness. "Early life history of herring (*Clupea harengus* L.) larvae in contrasting environments determined by back-calculation of otolith growth. Presentert ved Ichthyoplankton Ecology Symposium, 8-11 juli 1997, Galway, Irland (artikkel i spesialutgave av Journal of Fish Biology).
2. Blom, G., A. Folkvord, P. Fossum & A. Johannessen, "Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.) originating from different spawning areas. Presentert ved Ichthyoplankton Ecology Symposium, 8-11 juli 1997, Galway, Irland (artikkel i spesialutgave av Journal of Fish Biology).

Andre rapporter, foredrag og presentasjoner fra vitenskapelige/faglige møter:

1. Folkvord, A., L. Ystanes, A. Johannessen & E. Moksness. "RNA/DNA ratios reflect growth of herring (*Clupea harengus* L.) larvae reared in mesocosms" Foredrag presentert ved Larval Fish Conference, 26-30 juni 1995, Sydney, Australia (abstract).
2. Folkvord, A., A. Johannessen, E. Moksness & L. Ystanes. "Comparison of somatic growth rates with RNA:DNA ratios and otolith growth rates of herring larvae reared in mesocosms. Presentert ved årsmøte i Norske Havforskere Forening, 27-29 okt. 1995, Arendal (abstract).
3. Folkvord, A., P. Fossum, A. Johannessen & E. Moksness. "Herring otolith microstructure ; precision, accuracy and applications. A project presentation. Foredrag presentert ved årsmøte i Norske Havforskere Forening, 27-29 okt. 1995, Arendal (abstract).

4. Stenevik, E.K., P. Fossum, A. Johannessen & A. Folkvord. "Identification of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae from spawning grounds off western Norway applying otolith microstructure analysis. Foredrag presentert ved årsmøte i Norske Havforskeres Forening, 27-29 okt. 1995, Arendal (abstract).
5. Blom, G., A. Johannessen, A. Folkvord & F. Midtøy. "Growth and condition of autumn spawned herring, *Clupea harengus* L. larvae reared at different temperatures and prey densities. Foredrag presentert ved "76th Annual Meeting in the American Fisheries Society", 13-19 juni 1996, New Orleans, USA (abstract).
6. Gundersen, G., J. Giske & A. Folkvord. "Impact on birth date on early life growth and survival of *Maurolicus muelleri* larvae". Poster presentert ved "76th Annual meeting in the American Fisheries Society", 13-19 juni, New Orleans, USA.
7. Høie, H., A. Folkvord, A. Johannessen & E. Moksness. "Genetic and environmental effects on hatch-check size and formation in herring (*Clupea harengus* L.) otoliths". Poster presentert ved "76th Annual Meeting in the American Fisheries Society", Juni 13-19, New Orleans, USA.
8. Folkvord, A. "Experimental protocols in larval fish research". Foredrag presentert ved "ICES Working Group in Recruitment Processes" møte i Halifax, Canada, 17-20 juni 1996.
9. ICES Working Group Report, ICES CM 1996/L:6 (A. Folkvord en av flere bidragsytere). Rapport fra arbeidsgruppemøte i Halifax, Canada, 17-20 juni 1996, 17 s.
10. Slotte, A. & A. Johannessen 1997. Spawning of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) related to geographical location and population structure. ICES, CM.1997/CC:17. 36 pp.
11. Folkvord, A., K. Rukan, A. Johannessen & E. Moksness. "Early life history of herring (*Clupea harengus* L.) larvae in contrasting environments determined by back-calculation of otolith growth". Foredrag presentert ved EFAN Plenary Meeting i Brest, Frankrike, 29-31 mai 1997.
12. Folkvord, A., A. Johannessen, E. Moksness & P. Fossum. "Temperature-dependent otolith growth in herring (*Clupea harengus* L.) larvae". Poster presentert ved "Ichthyoplankton ecology symposium", *The Fisheries Society of the British Isles Annual International Symposium*, 8-11 juli 1997, Galway, Irland (og ved Årsmøtet i Norske Havforskeres Forening, 31. okt. - 2. nov. Bergen 1997).
13. Johannessen, A. "Early life history of herring larvae determined by otolith microstructure analysis". Foredrag presentert ved Shanghai Fisheries University, 6. nov. 1997.
14. Johannessen, A. "Recruitment studies of Marine Fish". Foredrag presentert ved The Marine Biological Association of Hong Kong, Hong Kong University, 11. nov. 1997.