

ISSN: 0074-0993

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

Bulletin—Boletín

Vol. 23, No. 2

**ESTIMATES OF AGE AND GROWTH OF BIGEYE TUNA  
(*THUNNUS OBESUS*) IN THE EASTERN PACIFIC OCEAN,  
BASED ON OTOLITH INCREMENTS AND TAGGING DATA**

**ESTIMACIONES DE LA EDAD Y EL CRECIMIENTO DEL ATÚN  
PATUDO (*THUNNUS OBESUS*) EN EL OCÉANO PACÍFICO  
ORIENTAL, BASADAS EN INCREMENTOS DE LOS OTOLITOS  
Y DATOS DE MARCADO**

by—por

**Kurt M. Schaefer and—y Daniel W. Fuller**

La Jolla, California  
2006

The Inter-American Tropical Tuna Commission (IATTC) operates under the authority and direction of a convention originally entered into by Costa Rica and the United States. The convention, which came into force in 1950, is open to adherence by other governments whose nationals fish for tropical tunas in the eastern Pacific Ocean. Under this provision Panama adhered in 1953, Ecuador in 1961, Mexico in 1964, Canada in 1968, Japan in 1970, France and Nicaragua in 1973, Vanuatu in 1990, Venezuela in 1992, El Salvador in 1997, Guatemala in 2000, Peru in 2002, Spain in 2003, and the Republic of Korea in 2005. Canada withdrew from the Commission in 1984.

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

La Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT) funciona bajo la autoridad y dirección de una convención establecida originalmente por Costa Rica y los Estados Unidos. La Convención, vigente desde 1950, está abierta a la afiliación de otros gobiernos cuyos ciudadanos pescan atunes en el Océano Pacífico oriental. Bajo esta estipulación, Panamá se afilió en 1953, Ecuador en 1961, México en 1964, Canadá en 1968, Japón en 1970, Francia y Nicaragua en 1973, Vanuatu en 1990, Venezuela en 1991, El Salvador en 1997, Guatemala en 2000, Perú en 2002, España en 2003, y la República de Corea en 2005. Canadá se retiró de la Comisión en 1984.

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

### COMMISSIONERS—COMISIONADOS

#### **COSTA RICA**

Ligia Castro  
George Heigold  
Asdrubal Vásquez Nuñez

#### **ECUADOR**

Juan Francisco Ballén M.  
Jorge Kalil Barreiro  
Boris Kusijanovic Trujillo  
Luis Torres Navarrete

#### **EL SALVADOR**

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

#### **ESPAÑA—SPAIN**

Rafael Centenera Ulecia  
Fernando Curcio Ruigómez  
Samuel J. Juárez Casado

#### **FRANCE—FRANCIA**

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

#### **GUATEMALA**

Edilbeto Ruíz Alvarez  
Ricardo Santacruz Rubí  
Erick Villagrán Colón

#### **JAPAN—JAPÓN**

Katsuma Hanafusa  
Masahiro Ishikawa  
Toshiyuki Iwado

#### **MÉXICO**

Guillermo Compeán Jiménez  
Ramón Corral Ávila  
Michel Dreyfus León

#### **NICARAGUA**

Miguel Angel Marengo Urcuyo  
Edward E. Weissman

#### **PANAMÁ**

María Patricia Díaz  
Arnulfo Franco Rodríguez  
Leika Martínez  
George Novey

#### **PERÚ**

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

#### **REPUBLIC OF KOREA— REPÚBLICA DE COREA**

Yang-Soo Kim  
Kyu Jin Seok  
Jae-Hak Son

#### **USA—EE.UU.**

Scott Burns  
Robert Fletcher  
Rodney McInnis  
Patrick Rose

#### **VANUATU**

Moses Amos  
Christophe Emelee  
David Johnson

#### **VENEZUELA**

Alvin Delgado  
Oscar Lucentini Wozel  
Nancy Tablante

*Director—Directór*  
Robin Allen

*Headquarters and Main Laboratory—Oficina y Laboratorio Principal*  
8604 La Jolla Shores Drive  
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.  
[www.iattc.org](http://www.iattc.org)

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

Bulletin—Boletín

Vol. 23, No. 2

**ESTIMATES OF AGE AND GROWTH OF BIGEYE TUNA  
(*THUNNUS OBESUS*) IN THE EASTERN PACIFIC OCEAN,  
BASED ON OTOLITH INCREMENTS AND TAGGING DATA**

**ESTIMACIONES DE LA EDAD Y EL CRECIMIENTO DEL ATÚN  
PATUDO (*THUNNUS OBESUS*) EN EL OCÉANO PACÍFICO  
ORIENTAL, BASADAS EN INCREMENTOS DE LOS OTOLITOS  
Y DATOS DE MARCADO**

by—por

**Kurt M. Schaefer and—y Daniel W. Fuller**

La Jolla, California

2006

**CONTENTS—INDICE**

**ENGLISH VERSION—VERSION EN INGLES**

	Page
ABSTRACT .....	35
INTRODUCTION .....	35
MATERIALS AND METHODS .....	36
RESULTS .....	40
DISCUSSION .....	43
ACKNOWLEDGEMENTS .....	46

---

<b>FIGURES—FIGURAS</b> .....	<b>47</b>
------------------------------	-----------

---

<b>TABLES—TABLAS</b> .....	<b>57</b>
----------------------------	-----------

---

**VERSION EN ESPAÑOL—SPANISH VERSION**

RESUMEN .....	61
INTRODUCCIÓN .....	61
MATERIALES Y MÉTODOS .....	62
RESULTADOS .....	67
DISCUSIÓN .....	69
AGRADACIMIENTOS .....	72

---

<b>LITERATURE CITED—BIBLIOGRAFÍA CITADA</b> .....	<b>73</b>
---	-----------

ESTIMATES OF AGE AND GROWTH OF BIGEYE TUNA (*THUNNUS OBESUS*) IN  
THE EASTERN PACIFIC OCEAN, BASED ON OTOLITH INCREMENTS AND  
TAGGING DATA

by

Kurt M. Schaefer and Daniel W. Fuller

ABSTRACT

Tagging and oxytetracycline hydrochloride (OTC)-marking experiments conducted in the central and eastern Pacific Ocean (EPO) demonstrated that bigeye tuna (*Thunnus obesus*), in the length range of 38 to 135 cm, deposit daily increments in their sagittal otoliths. Frontal sections, along the primordium to the postrostral axis, of sagittal otoliths provided an optimal counting path for resolving daily increments, with light microscopy, for fish up to 4 years of age. The numbers of increments counted in the sagittae of 254 bigeye (30 to 149 cm), captured by purse-seine vessels in the EPO between 2000 and 2004, were used as direct estimates of their ages in days. The growth of bigeye in the EPO is described in terms of their length, based on fitting the von Bertalanffy model to the length-at-age data. The models derived for females and males were not significantly different. Equations were also developed to predict age and weight from the length data. Growth of bigeye in the eastern Pacific is also estimated from fitting a von Bertalanffy model to a data set for 205 bigeye tagged in the EPO and recaptured between 2000 and 2004. The growth rate derived from the tagging data was compared with that from the length-at-age data, and the two independent sets of data show similar decreases in growth with increasing length.

**Key words:** age, bigeye tuna, growth, otoliths, Pacific Ocean, tagging

INTRODUCTION

Bigeye tuna, *Thunnus obesus*, inhabit tropical and subtropical waters of the Pacific, Indian, and Atlantic Oceans (Collette and Nauen, 1983; Collette *et al.*, 2001). Tagging studies of bigeye conducted in the eastern, central, and western Pacific Ocean indicate regional fidelity, with little mixing between adjacent regions (Hampton and Gunn, 1998; Hampton *et al.*, 1998; Itano and Holland, 2000; Schaefer and Fuller, 2002, 2005a).

Bigeye are commonly distributed during the day at depths of 250-300 m, but also occur above 50 m when associated with floating objects (Schaefer and Fuller, 2002, 2005b). Bigeye have been a primary target species of the longliners fishing in the eastern Pacific Ocean (EPO) since the 1950s (Hampton *et al.*, 1998; Miyabe and Bayliff, 1998). Since 1994, longline catches of bigeye in the EPO have significantly decreased, and purse-seine catches of bigeye, as a result of fishing effort directed at tunas associated with fish-aggregating devices (FADs), have significantly increased, creating uncertainty about the sustainability of recent levels of exploitation (Anonymous, 2004; Maunder and Hoyle, 2006).

Although accurate information on age and growth is essential for conducting comprehensive stock assessments of bigeye, there have not previously been any validated ageing studies for this species in the EPO. Size-at-age data permit the formulation of growth rate estimates, and make it feasible to incorporate age-specific characteristics, such as mortality and fecundity, into population dynamics models. Growth rates can also be estimated by fitting growth models directly to changes in length obtained from tag-recapture studies.

The age and growth of bigeye tuna from the Pacific Ocean have been estimated from length-frequency data (Iversen, 1955; Shomura and Keala, 1963; Yukinawa and Yabuta, 1963; Kume and Joseph, 1966; Shomura, 1966; Suda and Kume, 1967), tagging studies (Lehody *et al.*, 1999), and temporal marks on scales (Nose *et al.*, 1957; Yukinawa and Yabuta, 1963), otoliths (Matsumoto, 1998; Lehody *et al.*, 1999; Kato, 2001; Farley *et al.*, 2003), and dorsal spines (Sun *et al.*, 2001). There are also several studies on age and growth of bigeye from the Atlantic Ocean, reviewed by Brown (2005), and studies in the Indian Ocean, using vertebrae and scales (Tankevich, 1982) and otoliths and dorsal spines (Stequert and Conand, 2004).

Recent ageing studies of marine fishes have utilized the occurrence of rhythmic deposition of natural marks in calcified structures as time indicators. Sagittal otoliths have been utilized for direct validation of age estimates in other species of the genus *Thunnus* (Wild and Foreman, 1980; Laurs *et al.*, 1985; Wild *et al.*, 1995; Foreman, 1996; Clear *et al.*, 2000). The age of bigeye tuna can be most accurately estimated from sagittal otoliths, provided the deposition rate of natural marks is known (Beamish and McFarlane, 1983; Secor *et al.*, 1995; and Campana, 2001).

The objectives of this investigation were to: (1) validate the periodicity of increments formed in frontal sections of oxytetracycline hydrochloride (OTC)-marked sagittal otoliths, from tagged and recovered bigeye in the central and eastern Pacific Ocean; (2) estimate ages of bigeye sampled from the catch from the EPO from otolith increment counts; (3) evaluate sex-specific age and growth of bigeye from age-at-length data; (4) evaluate growth of bigeye in the EPO from tagging data; and (5) compare estimates of growth from the length-at-age data with those derived from tagging data from the EPO.

## MATERIALS AND METHODS

This investigation consists of four distinct components: (1) tag-recapture OTC-marking experiments to investigate the increment deposition rate in frontal sections of otoliths and their usefulness for estimation of the age and growth of bigeye; (2) systematic sampling of the commercial catch of bigeye by purse-seine vessels in the EPO for otoliths and corresponding size information, for the estimation of age at size and an evaluation of sex-specific growth rates; (3) analyses of tag-recapture data from the EPO for estimation of growth rates and comparison with those from the age-at-size data; and (4) an experiment to evaluate the effects of death, freezing, and subsequent thawing for adjusting lengths at recapture of tagged bigeye tuna for estimation of growth rates.

### *Tag releases and otolith marking*

OTC, a calciphillic fluorochrome, after injection into musculature and absorption into the circulatory system, is incorporated into the developing increment on the edge of the otolith, which can then be detected by its fluorescence under ultraviolet light (Wild and Foreman, 1980; Foreman, 1996).

During 1995 and 1996, 1,043 bigeye, 36 to 105 cm in fork length (tip of upper jaw to fork of tail), captured primarily by surface handlining and vertical jigging, were measured to the nearest centimeter, tagged with individually-numbered, 12-cm green plastic dart tags (Hallprint, Pty., 2005), injected intermuscularly just below the first dorsal fin with approximately 0.25 ml/kg of 100-mg/ml OTC solution, using methods similar to those described by Wild and Foreman (1980) and Foreman (1996), and released west by southwest of the island of Hawaii. The tags were inserted, using tubular stainless steel applicators, into the dorsal musculature, with the barbed heads passing between the pterygiophores below the base of the second dorsal

fin. A 3-ml Becton-Dickinson disposable syringe with a 18-gauge, 1.5-inch (34-mm) needle was used for injections. Information for reporting the recovery of the fish was printed on the tags.

During 2000 and 2002-2004, 1,094 bigeye, 46 to 139 cm in length, captured by pole-and-line, rod-and-reel, and handline fishing, were measured to the nearest centimeter, tagged, as described above, with individually-numbered 12-cm yellow plastic dart tags, or green plastic dart tags in combination with archival (data storage) tags (Schaefer and Fuller, 2002), injected with OTC, and released in the equatorial EPO between about 2°N and 2°S and 95°W and 97°W. A continuous pipetting syringe dispenser with a 18-gauge, 1.5-inch (34-mm) needle was used for injections. Information for reporting the recovery of the fish was printed on the tags.

### ***Tag recoveries***

Methods utilized in tagging bigeye and recovery of tag recapture information are similar to those described by Bayliff and Holland (1986). Almost all bigeye tag returns have come from unloaders of purse-seine vessels, who rarely measured the fish, but often reported inaccurate size information. We have chosen to use a subset of the bigeye tagging data, for which there is a high degree of certainty of the recapture lengths. Almost all the data in this subset come from bigeye recovered and measured (after thawing) with calipers, to the nearest millimeter, by Inter-American Tropical Tuna Commission (IATTC) field office personnel. The subset of tagging data is based on releases and recaptures of bigeye between April 15, 2000, and December 26, 2004, in the eastern and central Pacific Ocean.

Otoliths have been recovered from 46 of 101, and 81 of 424 recaptured bigeye, previously tagged and injected with OTC during the tagging cruises initiated off Hawaii and in the EPO, respectively. In order to minimize redundancy in the fish lengths and times at liberty for these otolith samples, yet optimize the size range over which the increment deposition rate could be validated, we selected a subset of 70 otoliths, 26 from Hawaii and 44 from the EPO, which provided a length range of 38 to 135 cm (at recapture), and time at liberty of 15 to 551 days (Figure 1).

### ***Shrinkage experiment***

In order to evaluate the potential shrinkage in length of bigeye caused by death, freezing, and thawing, an experiment was conducted between May and August, 2005, at the IATTC's field office in Manta, Ecuador. Observers aboard purse-seine fishing vessels sampled up to 50 bigeye, from throughout the length ranges available, during four separate trips. The length of each fish was measured with calipers to the nearest millimeter, within one hour of capture, and a tag with a numerical code was attached to the caudal peduncle of the fish, which was then placed in brine wells aboard the vessel and frozen. After completion of the trip, during unloading of the vessel at the cannery, the tagged fish were collected and held in containers in the freezer facility of the cannery until they were thawed for processing. The thawed fish were measured to the nearest millimeter with calipers. At the time of remeasuring, the original fresh lengths of the fish were not available, to prevent any bias.

### ***Sampling the eastern Pacific catch***

A sampling program designed to collect sagittal otoliths and size information from the commercial catch in the EPO was initiated in January 2001 at the IATTC's field offices in Manta and Las Playas, Ecuador. Bigeye from the purse-seine fishery were sampled at canneries across 12 10-cm length classes between 30 and 150 cm. A minimum of 15 fish of each sex were to be selected in each of the 12 length classes, for a total of 360 specimens; otoliths were obtained from 378

fish, and length and weight data were obtained for 372 of those. The samples came from 54 separate purse-seine sets, which took place in the EPO from December 20, 2000, to July 30, 2004, between 5°29'N and 16°05'S and 84°23'W and 142°27'W (Figure 3).

Each fish was measured with calipers to the nearest millimeter and weighed with an electronic platform balance to the nearest 10 grams. The body cavity was cut open with a knife, the gonads removed, and the sex determined, whenever possible, through macroscopic or microscopic (when warranted) examination. The sagittal otoliths were collected from each specimen.

Capture locations and dates, and other set information, were recorded for each of the specimens sampled, based on observer records.

#### ***Preparation and analysis of OTC-marked otoliths***

Each pair of otoliths removed from a fish was cleansed of adhering tissue in sodium hypochlorite solution (laundry bleach), using a fine (3/0) artist's sable brush, while manipulating the otolith with forceps. Otoliths were then rinsed in distilled water, placed on absorbent paper to dry, and then in paired BEEM<sup>®</sup> capsules within a single plastic container. Containers were then stored in darkness to prevent photolysis of the mark (Weber and Ridgway, 1967; Chilton and Beamish, 1982; Morales-Nin, 1992).

Frontal sections, along the primordium to postrostral axis, of sagittal otoliths (Figure 2) appear to provide an optimal counting path in bigeye tuna otoliths, as this is longest path, and thus provides wider increments than transverse sections (Wild and Foreman, 1980; Secor *et al.*, 1991). Whichever otolith of a pair appeared to have the least abnormalities and potential obstructions along the counting path was chosen for preparation, because previous studies with *Thunnus* species (Wild and Foreman, 1980; Laurs *et al.*, 1985; Farley *et al.*, 2003) indicated that the numbers of increments on the left and right sagitta were not significantly different.

Preparation of an otolith began by filling a mold with Buehler EPOXYCURE<sup>™</sup> resin until the bottom was covered. The epoxy was cured in a drying oven at 40°C for 24 hours. When the epoxy was fully cured the otolith was placed in the mold, sulcus side up. After several otoliths have been placed in molds more epoxy was added to the molds. It is imperative to cover the otoliths completely with epoxy, while trying not to allow any air bubbles to form between the epoxy and the surface of the otolith, especially in the sulcus. Once complete, the molds were again placed in a drying oven at 40°C for 24 hours.

The epoxy block, with the encased otolith, was removed from the mold and examined under a stereomicroscope, and dots were placed, using a fine-point permanent marker, at precisely the postrostral (P) tip and the primordium (Pr) (Figure 2A), the axis in which a frontal section was cut. These marks were used as references while attaching the otolith to a Buehler Low-Speed Isomet saw for sectioning. Proper alignment of the otolith for sectioning is critical because, if the postrostral tip and/or primordium are not obtained in the section the counts will be inaccurate. Optimum alignment was achieved with a 10X radial arm-mounted magnifying glass with illumination. The thin sections were made with two diamond-wafering blades with a 0.5-mm spacer between them. The 0.5-mm thickness was chosen for cutting the sections, after experimentation, to optimize the probability for inclusion of the postrostral tip and primordium in each section.

The section was then mounted to a microscope slide with Crystalbond<sup>™</sup> thermoplastic glue while heated to 130°C on a hot plate. The slide was removed from the hot plate and allowed to cool for a few minutes. Once cool, the slide was viewed under the compound microscope (150X) to determine the degree of polishing needed to obtain an optimal counting path.

The amount of polishing necessary for an otolith section was evaluated on an individual basis, as there was variation among sections. The objective was to polish to the primordium and



postrostral tip without removing either so as to have a section that was readable along that entire axis. If much polishing was necessary, the process began with 400-grit wet/dry sandpaper to rapidly grind the reading surface. If less polishing was necessary, 30-, 15-, or 5- $\mu$  3M lapping film was used. In either case, proceeding from a more abrasive to a less abrasive compound is preferred to remove all of the scratches. Final polishing was done with a 0.3- $\mu$  alumina silicate polishing compound and polishing cloth. It is important to view the otolith section frequently under the compound microscope during the polishing process to determine how much polishing is still needed to reach the desired depth. Once the desired depth was reached (close to the primordium and postrostral tip), the slide was placed back on the hot plate at 130°C to liquefy the Crystalbond™ so that the otolith section could be turned over, using fine forceps, for further polishing. Care must be taken when turning the section over, as it is very thin and fragile, and can easily be broken. Polishing continued as previously described, being careful not to polish through any part of the section.

The last step in the preparation of an otolith frontal section is acid etching. Acid etching was used to decalcify the section further for better light transmission, elucidate increments that are difficult to see, and enhance the contrast between the dark and light zones of daily increments (Panella, 1971; Campana and Neilson, 1985; Morales-Nin, 1992). For this process 5% Ethylene-Diamine-Tetraacetic-Acid (EDTA) was applied directly to the otolith surface for 90 seconds. After 90 seconds, the otolith section was washed thoroughly in deionized water to arrest the etching process. The section was observed one more time under the compound microscope to ensure that it had not been over-etched.

### *Counting the increments*

The rate at which the increments were deposited was estimated by counting the increments between the fluorescent marks and the edges of the postrostral tips of otoliths of tagged and injected fish that were subsequently recaptured, and comparing the counts with the numbers of days at liberty. The characteristic yellow OTC mark was initially located by fluorescence induced by ultraviolet light from a 200-watt mercury burner and then the specific increment was identified by gradually introducing transmitted visible light. Excitation wave length of the ultraviolet light was limited by a combination of BG-12, B (500-nm) and V (400-nm) filters, and autofluorescence reduced by a 530-nm barrier filter. Counts of the increments on the sections were made along the primordium-postrostral axis from the OTC mark to the postrostrum tip, using immersion oil with an Olympus Vanox light microscope at 900X magnification (SplanApo60X objective; WF15X eyepieces).

Initially five pairs of otolith sections were selected, and the numbers of days at liberty were utilized to develop the criteria for what constitutes an increment. Each of the 70 sections utilized in the study of the increment deposition rate was assigned a code, and the number of days at liberty was not known at the time of the otolith readings. The increments on each section were counted five times and averaged to obtain final estimates by each of two readers. A paired-sample t test indicated no significant difference in counts between the two readers ( $t = -0.13$ ,  $DF = 69$ ,  $P > 0.05$ ). Grand means were calculated from the mean counts of the two readers and utilized in the subsequent analyses.

### *Otolith processing for age estimation*

The lengths of the intended counting paths were measured, using the digital imaging system described below, in conjunction with a Nikon SMZ-10 dissecting microscope. Otoliths collected from the commercial catch were prepared, using the methodology described in the above

section entitled *Preparation and analysis of OTC-marked otoliths*.

The number of bigeye specimens, by length-class interval and sex, for which ages were estimated based on counts of increments on frontal sections of sagittal otoliths, are given in Table 1.

The increments were counted and measured with a Digital Imaging System (DIS). The DIS consisted of a Nikon OPTIPHOT compound microscope, Diagnostic Instruments (2002) SPOT RT digital camera, a desktop computer with a 17-inch (43-cm) LCD monitor, and Image-Pro Plus (IP+) (Media Cybernetics, 2002) software. Prepared sections were viewed through a Nikon 40X Plan dry objective with transmitted light, yielding an absolute magnification of 1425X. Prior to capturing the images of the sectioned otoliths and counting the increments, neutral density (6.85%) and green light filters were used to enhance the contrast, and the system was calibrated to ensure accurate measurements by capturing images of a stage micrometer and calibrating these images on the LCD monitor within IP+ (Media Cybernetics, 2002).

The restricted field of view at this magnification required that numerous images be captured with the SPOT camera and spliced together in IP+. The SPOT camera has an electronic shutter that allows real-time preview images to be displayed on the LCD monitor within IP+. This permits the user to fine tune the focus and position of the section as required for optimizing the view of the increments prior to capturing an image. At this point the image is captured and automatically stored for later use. Before capturing the next image, the stage of the microscope is moved one frame down the counting path; *i.e.*, the leading edge of the previously-captured image becomes the trailing edge of the next image. This process is repeated until a complete transect of the counting path has been captured. This process requires capturing between 14 and 30 images, depending on the length of the counting path.

A mosaic of the captured images was created by adding each successive image to construct a final reproduction of the counting path (Figure 2B). The "caliper" tool in IP+ was used to count and measure each increment (Figure 4). This was accomplished by manually drawing lines down the counting path on which increments are counted and measured (it is possible to count and measure only on a line). In most instances several lines were used to ensure that the line intersects the increments where they are most visible. The caliper was set up to automatically mark and measure increments by detecting a specific, user-defined, color ramp (rate of change in numerical value of each pixel), and placing a red tick-mark at that point (Figure 4). It was possible for the user to manipulate the marks by either adding or removing them, as necessary, to obtain an accurate count and measurement. When counting the increments along a line was complete, the counts and corresponding measurements were transferred to a Microsoft Excel workbook, via a Dynamic Data Exchange (DDE) built into IP+. Each successive line count, when complete, was appended to the same worksheet via the DDE function. Once counting the entire section is complete and all the counts and measurements had been added to the worksheet, it was saved according to the corresponding sample number. The total count was then also added to the main worksheet, in which all the sampling data were stored.

## RESULTS

### *Weight-length relationship*

Totals of 163 male, 165 female, and 54 bigeye of indeterminate sex were measured and weighed. The relationship between weight (kilograms) and length (centimeters) for all bigeye sampled is shown in Figure 5. Analysis of covariance (Zar, 1974) indicated no significant differences in the slopes ( $F = 0.13$ ;  $DF = 1, 324$ ;  $P > 0.05$ ) or elevations ( $F = 0.85$ ;  $DF = 1, 325$ ;  $P > 0.05$ ) of the weight-length relationships of females and males. The weight-length relationship

for all data combined was expressed as:

$$W = 0.000031865 L^{2.926} \quad (r^2 = 0.992, n = 382)$$

### *Increment deposition rate in otoliths*

The relationship between the number of increments from the OTC marks to the postrostral tip and days at liberty is:

$$I = 0.9998D - 1.0353 \quad (r^2 = 0.999, n = 70)$$

where  $I$  = grand mean count of increments from the OTC mark to the postrostral tip in a frontal section of the otolith and  $D$  = days at liberty (Figures 6 and 7). The slope of the line is not significantly different from 1 ( $t = 0.06$ ,  $DF = 69$ ,  $P > 0.05$ ). The 95% confidence interval around the regression coefficient for the slope is 0.99-1.01. The results indicate that bigeye in the length range of 38 to 135 cm produce increments in their sagittal otoliths at daily intervals, and that the criteria adopted for identifying these increments on the otolith frontal sections are valid. If it is assumed that increments are deposited at the same rate in bigeye less than 38 cm and from 135 to about 150 cm, increment counts on frontal sections of the sagittae should provide accurate estimates of absolute age in days.

### *Growth rates estimated from otolith data*

The relationships between length and estimated age, representative of growth, for bigeye of indeterminate sex, females, and males (Table 1) are shown in Figure 8.

The following von Bertalanffy (1938) function was fitted to the untransformed data sets for bigeye females, males, and pooled data, using a nonlinear regression procedure:

$$Y_t = Y_\infty(1 - e^{-K(t-t_0)})$$

where  $Y_t$  = length at time  $t$ ;  $Y_\infty$  = the asymptotic length;  $K$  = growth parameter; and  $t_0$  = the  $t$ -axis intercept.

The von Bertalanffy growth parameters derived for each of the data sets are shown in Table 2. An analysis of the residual sum of squares (Zar, 1974; Chen *et al.*, 1992) comparing the von Bertalanffy equations for females and males indicates that growth rates of the two sexes are not significantly different ( $F = 0.54$ ;  $DF = 3, 220$ ;  $P > 0.05$ ).

The Richards (1959), Gompertz and von Bertalanffy functions (Ricker, 1979; Seber and Wild, 1989) were fitted to the untransformed data set for length and estimated age of all bigeye data shown in Table 1 and Figure 8, using a nonlinear regression procedure. The von Bertalanffy function was selected as the best fit with the fewest parameters, as compared to the Richards function ( $F = -3.14$ ;  $DF = 1, 250$ ;  $P > 0.05$ ), and the Gompertz function ( $F = 8.49$ ;  $DF = 1, 251$ ;  $P < 0.05$ ) based on an approximate  $F$ -ratio statistic (Schnute, 1981). A simple linear regression model was also fit to the untransformed data set for length and estimated age of all bigeye. The von Bertalanffy function was selected over the simple linear regression model, since it provided a significantly better fit ( $F = 21.55$ ;  $DF = 1, 251$ ;  $P < 0.05$ ).

The relationship between length and estimated age for all data, based on the von Bertalanffy growth model, is shown in Figure 9A. The parameters for the model are shown in Table 2. The growth rates derived from this von Bertalanffy model, relative to length and age, are shown in Figures 9B and 9C, respectively. It is apparent that the growth rate decreases as length and age increase. The growth rates at 0.5 years (36.2 cm) and 4.0 years (151.3 cm) are estimated to be 39.3 cm/year and 26.9 cm/year, respectively. The predicted lengths, based on the von Bertalanffy model for all data (Table 2; Figure 9a), for the range of estimated ages are shown in Table 3, along with predicted weights and growth rates at those lengths.

**Age prediction**

To predict age from the length measurements, the following transformed von Bertalanffy model was fitted to the  $t$  (estimated age) and  $Y_t$  (length) data, using a nonlinear regression procedure:

$$t = t_0 - (1/K)\ln(1 - Y_t/Y_\infty)$$

The parameters for this model are given in Table 2.

**Fresh length-thawed length relationship**

One hundred and twenty-two bigeye were accurately measured and tagged aboard purse-seine vessels shortly after capture. Seventy-three of the tagged bigeye, from 57 to 145 cm in length, were accurately remeasured after being unloaded and thawed at canneries. The relationship between fresh and thawed lengths for bigeye sampled is shown in Figure 10. Fresh and thawed length values were compared, using a paired-sample  $t$  test, and found to be significantly different ( $P < 0.0001$ ). The average percent shrinkage in length was 1.95%.

The fresh length-thawed length relationship was expressed as:

$$L_f = 1.01814L_t + 0.1481 \quad (r^2 = 0.999, n = 73)$$

where  $L_f$  = fresh length (mm) of fish after capture and  $L_t$  = thawed length (mm) of fish after thawing. The predicted percent shrinkage for a 60-cm and 140-cm bigeye are 2.02% and 1.88%, respectively.

**Growth rates estimated from tagging data**

The regression coefficients from the relationship above were used to predict fresh length values from the reported thawed length values for 205 recaptured bigeye, for the following estimates of growth rates.

The linear growth rates for 205 recaptured bigeye, at liberty for 30 days or more, grouped by length, time at liberty, and sex are summarized in Table 4. The sample sizes for most of the length and time intervals, including those for females and males, are insufficient for statistical comparisons of growth rates. The growth rates are variable among groupings, but for those with sample sizes of 20 or more individuals at liberty for more than 90 days the range is 2.71 to 3.09 cm/month.

To obtain estimates of  $K$  and  $L_\infty$  from the von Bertalanffy growth model, the following equation of Chapman (1960) was fit to the tagging data, using a nonlinear regression procedure:

$$L_2 = L_1 + (L_\infty - L_1)(1 - e^{-K\Delta})$$

where  $L_1$  = length at tagging,  $L_2$  = length at recapture, and  $\Delta$  = days at liberty.  $L_\infty$  was constrained to a maximum of 400 cm, the parameter value derived from the von Bertalanffy model fit to the age-at-length data (Table 2). The  $K$  and  $L_\infty$  parameters from this model were estimated to be 0.120 (on an annual basis) and 367.7, respectively.

To illustrate the variability in growth in the tagging data, and also the fit of the estimated growth rate to those data, the estimated mean of the lengths between release and recapture, for each fish in the data set, was estimated, using the procedure of Bayliff (1988), and plotted (Figure 11). The growth model appears to provide a reasonable fit to the distribution of the estimated mean lengths of the tag recapture data.

The estimated growth rate from the age-at-length data (Figure 9B) is superimposed on Figure 11 for comparison of the growth rates. Although the growth rates derived from the two independent sets of data are not identical, they are very similar. The growth rates estimated from the age-at-length data for a 50-cm and a 150-cm bigeye are only 0.35 cm/year less and 0.87

cm/year greater, respectively, than those estimated from the tagging data. These results provide further evidence that the ageing techniques used in this study are not underestimating the age of the fish. The growth rates derived from the age-at-length and tagging data extend over a length range from 30.4 to 172.4 cm.

The estimated ages for lengths at recapture derived from estimated age for length at release, from the otolith age-length relationship, and adding time at liberty are plotted in Figure 12. The estimates of age at length from the otolith increment counts, along with the relationship derived from the von Bertalanffy model parameters are superimposed on Figure 12. It is apparent that the von Bertalanffy relationship fits both sets of data extremely well, and provides an alternative comparison of the growth rates derived from these two data sources.

## DISCUSSION

Frontal sections, along the primordium to post-rostral axis, of sagittal otoliths appear to provide the best opportunity for resolving daily increments up to some presently-undetermined maximum age (Secor *et al.*, 1991). Daily periodicity of deposition rate of otolith increments, as suggested by Panella (1971, 1974), has been validated for numerous species of marine fishes (Campana and Nielsen, 1985), including yellowfin tuna, *Thunnus albacares* (Wild and Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995), albacore, *Thunnus alalunga* (Laurs *et al.*, 1985), and Pacific bluefin, *Thunnus orientalis* (Foreman, 1996) over various length ranges. For bigeye of the eastern and central Pacific, the OTC marking experiment in this study indicates that during growth in length from 38 to 135 cm increments are formed in the sagittal otoliths at daily intervals. The validation of this increment deposition rate is based specifically on counts of increments along the primordium to post-rostral axis of frontal sections for a growth period of up to 551 days.

In the evaluation by Wild and Foreman (1980) of the relationships between otolith increments and time for yellowfin and skipjack (*Katsuwonus pelamis*) tunas marked with OTC, it was determined that counting increments along the path from the fluorescent mark to the ventral edge produced significantly lower counts than those along the path to the postrostral tip of the same otoliths. Farley *et al.* (2003) also reported that all increment counts on transverse sections of bigeye sagittal otoliths, marked with strontium chloride, underestimated the days at liberty.

It was assumed in the present study that daily increments are also deposited in bigeye otoliths in the growth interval, 0-38 cm, preceding the validated range. Although an increment deposition rate for bigeye in this length interval has not been validated, it has been established that increments are deposited daily in otoliths during early growth of other tunas, including Atlantic bluefin (*Thunnus thynnus*) (Brothers *et al.*, 1983), skipjack (Radtke, 1983; Tanabe *et al.*, 2003), black skipjack (*Euthynnus lineatus*) (Wexler, 1993), Pacific bluefin (Itoh *et al.*, 2000) and yellowfin (Wexler *et al.*, 2001).

The resolving power of the DIS utilized in this study is at least  $0.3 \mu$  (Eastman Kodak, 1980). It has been suggested by Lehodey *et al.*, (1999), Farley *et al.* (2003), and Stequert and Conand (2004) that otolith increment widths approach the limit of the optical microscope resolution for bigeye older than about three years of age or 120 cm in length. This is apparently a result of the methodology in those studies, utilizing transverse sections, which produce a more compressed counting path and theoretically narrower increments near the edge. However, it is apparent from the present study that frontal sections of otoliths provide a superior counting path due to their greater length, and thus greater increment widths, which makes it possible to age fish up to at least four years of age. The mean width of the last 50 increments of the 20 oldest bigeye in the present study is  $2.51 \mu$  (range  $1.59$  to  $3.74 \mu$ ), which is well above the limit of optical resolution. Furthermore, the suggestion by Stequert and Conand (2004) that a scanning electron microscope

(SEM) is required for counting daily increments for bigeye greater than 120 cm in length appears inappropriate, based on the findings in the present study. Other investigations in which incremental widths on sagittal otoliths have been evaluated for determination of the maximum potential age that can be determined accurately using light microscopy indicated about 5 years for yellowfin (Wild, 1986) and 4 years for Pacific bluefin (Foreman, 1996).

The Richards, Gompertz, von Bertalanffy, and simple linear equations were each fit to the length-at-age data, obtained from counts of otolith increments, in order to select an appropriate model systematically (Ricker, 1979; Schnute, 1981; Chen *et al.*, 1992). The von Bertalanffy model was selected, as it provided the best fit to the length-at-age data. The parameters  $K$  and  $L_\infty$  from the von Bertalanffy model (Table 2) should not be considered to have any biological significance because the distribution of these data up to about 4 years of age is nearly linear (Figure 8). The relatively low variance in length at age for fish of more than 3.5 years of age ( $n = 21$ ) is only slightly greater than that for fish less than 1 year of age ( $n = 64$ ). However, we believe that this is the result of the relatively small sample size for fish of more than 3.5 years of age.

The von Bertalanffy growth curve obtained in the present study, from length-at-age data based on counts of otolith increments, is compared in Figure 13 to previous studies from the Pacific in which ages of bigeye were estimated from hard parts. Other studies in the Pacific of bigeye age and growth have used scales (Nose *et al.*, 1957; Yukinawa and Yabuta, 1963), otoliths (Farley *et al.*, 2003), and dorsal spines (Sun *et al.*, 2001) to obtain annual age estimates and otoliths (Lehodey *et al.*, 1999) to obtain daily age estimates. However, these previous studies have not included any validation of the techniques used to age specimens, making it impossible to determine the reliability of those estimates. In contrast, in the present study the daily periodicity of increment deposition in the frontal sections of sagittal otoliths throughout most of the range for which age estimates were determined has been validated. The growth curve of Lehodey *et al.* (1999), based on otolith increment counts from transverse sections, produced lengths at ages 1 and 2 years similar to those of the present study. All other growth curves appear to significantly overestimate the length at age 1. Farley *et al.* (2003) report that their age estimates overestimate length at age for ages 1 to 3 years. The estimated lengths at ages beyond 3 years in the studies by Lehodey *et al.* (1999), Sun *et al.* (2001), and Farley *et al.* (2003), are significantly less than those in the present study. We believe these differences are the result of bias inherent in annual age estimation in the studies by Sun *et al.* (2001) and Farley *et al.* (2003), but may be the result of inherent differences among fish of different regions. In the study by Lehodey *et al.* (1999), the difference is probably the influence of the tagging data, within the composite model, for which only estimated ages for bigeye up to about 120 cm or 3 years of age were included.

The differences between the lengths at age 1 estimated in the present study and those of Lehodey *et al.* (1999) may be the result of geographic variation within stocks, as there appears to be little exchange of bigeye between the EPO and the central and western Pacific Ocean (Hampton and Gunn, 1998; Hampton *et al.*, 1998; Itano and Holland, 2000; Schaefer and Fuller, 2002; Schaefer and Fuller, 2005a; Hampton and Williams, 2005), but it is possible that they are the result of underestimating age from counts on transverse sections (Farley *et al.*, 2003).

The growth parameters obtained in this study from fitting the von Bertalanffy model to the length-at-age data appear to be the most appropriate for fish up to about 150 cm in length for use in stock assessments for bigeye in the EPO. Although the combination of tagging data with the length-at-age data within a composite growth model (Kirkwood, 1983; Eveson *et al.*, 2004), as applied by Lehodey *et al.* (1999), appears to be a useful application for extending the length range of estimated growth, there are insufficient numbers of recaptures of fish greater than 150

cm in length ( $n = 3$ ) available.

Appropriate methods for extending the range in length for which growth estimates are available include the estimation of ages of bigeye greater than 150 cm in length from counts of otolith increments, after validation of increment periodicity over those lengths. Other techniques to be considered for estimation of age and growth in bigeye over 150 cm could include validation of annual marks on the caudal vertebrae, as demonstrated for Pacific bluefin tuna (Foreman, 1996). Other such studies on Atlantic bluefin (Lee *et al.*, 1983; Prince *et al.*, 1985), albacore (Labelle *et al.*, 1993), and bigeye (Alves *et al.*, 2002) have indicated the presence of temporal marks on caudal vertebrae that may be of annual periodicity, based on comparisons of the results with other studies estimating growth for those species.

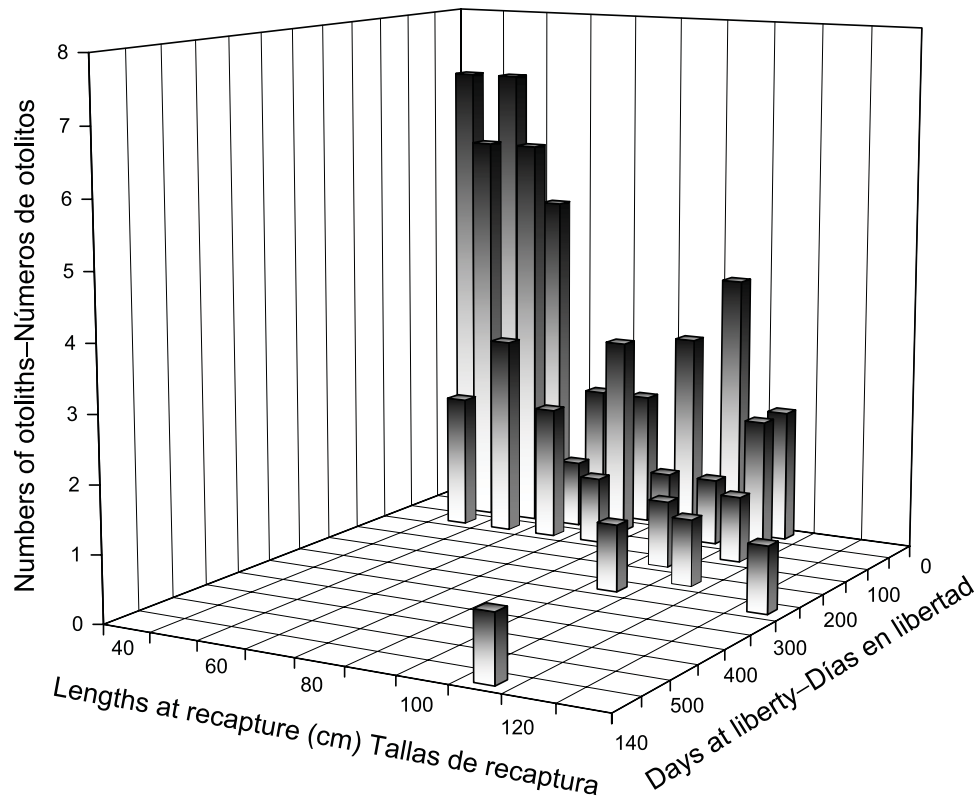
The subset of tagging data selected for this study for estimating growth rate of bigeye consists of initial lengths at release for live fish at the time of tagging, measured to the nearest centimeter using calibrated cradles (Bayliff and Holland, 1986). The lengths of recaptured fish were also measured precisely by IATTC field office personnel with calibrated calipers, but there is a shrinkage error introduced by the death, freezing, and thawing of the fish (Halliday and Roscoe, 1969; Treasurer, 1990; Morison *et al.*, 2003; Morison, 2004) aboard the fishing vessels and at the processing plants before recapture lengths are obtained. The average shrinkage of 1.95% in length for bigeye in the present study is comparable to the shrinkage of about 1-2% reported from a sample of yellowfin, 60 to 147 cm long, unloaded from a purse-seine vessel (Anonymous, 1974, p. 39). The difference in the estimated growth rates (Figure 11) derived from the length-at-age data and the tagging data was significantly less after adjustment for shrinkage in length of the recaptured bigeye. The growth rates estimated from the tagging data, with recapture lengths adjusted for shrinkage, are 4.52 cm/year and 2.12 cm/year greater for a 50-cm and a 150-cm bigeye, respectively, than those estimated from unadjusted tagging data. Adjustments of recapture lengths from tagging studies to account for shrinkage caused by death and preservation should be employed to eliminate this systematic error.

Although the lengths at ages 1 and 4 for bigeye (56 and 151 cm, respectively) from the present study are similar to those of yellowfin (49 and 156 cm, respectively) (Wild, 1986), the length and age at 50% maturity for bigeye (135 cm and 3.4 years) (Schaefer *et al.*, 2005) are considerably greater than those for yellowfin (92 cm and 2.1 years) (Schaefer, 1998; Schaefer, 2001). The apparent longevity for bigeye, based on an estimated maximum age of at least 15 years (Farley *et al.*, 2003) and the estimated age of the longest-term recapture of 13.83 years (John Hampton, pers. comm.), is at least 15 years. The apparent longevity for yellowfin, based on an estimated maximum age of at least 8 years (Alex Wild, pers. comm.) and the estimated age of the longest-term recapture of 8 years from the Secretariat of the Pacific Community, Oceanic Fisheries Programme tuna tagging database (John Hampton, pers. comm.), is at least 8 years.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

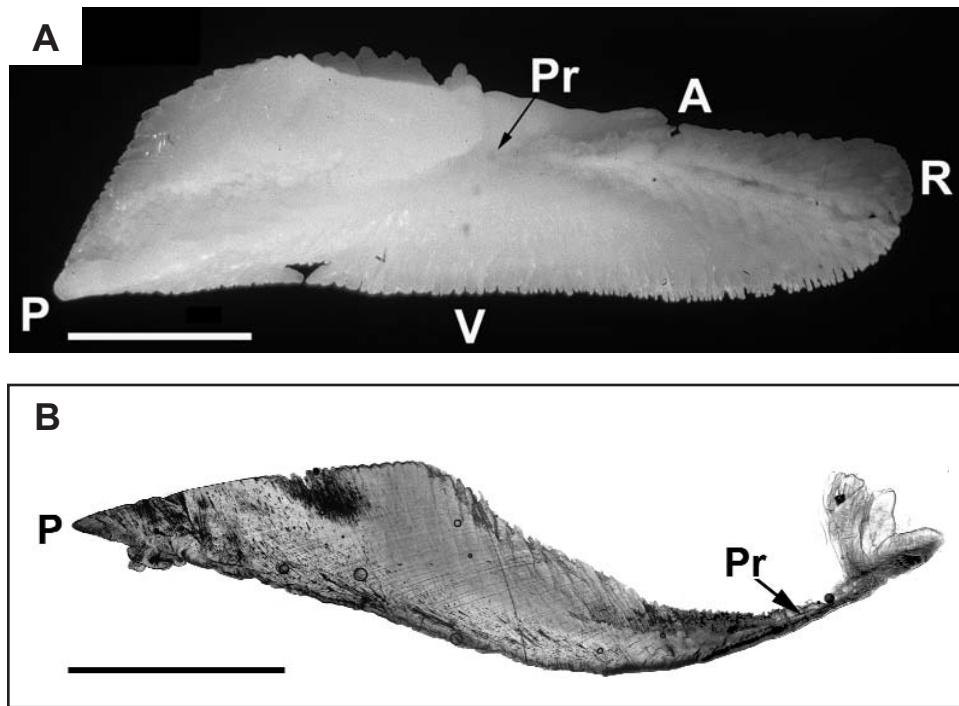
We thank Robin Allen, Director of the IATTC, and Richard Deriso, Chief Scientist of the IATTC Tuna-Billfish Program, for their support of this investigation. We are grateful to the staff of the IATTC Manta and Las Playas, Ecuador, field offices, Eric Largacha, Kruger Loor, and Carlos de la A. Florencia, and William Paladines, Aldo Basantes, and Felix Cruz, respectively, who conducted the bigeye sampling and collected the tag recovery information used in this investigation. The cooperation of the cannery general managers and employees who allowed the sampling of fish is also greatly appreciated. The tetracycline-marking experiment conducted in Hawaiian waters was performed in collaboration with Kim Holland and David Itano through the Pelagic Fisheries Research Program, JIMAR, University of Hawaii. We thank Patrick Tomlinson for sharing his insights and providing advice on fitting and interpretation of growth models. We also wish to thank Robin Allen, William Bayliff, Richard Deriso, John Hampton, Patrick Tomlinson, Jeanne Wexler, and an anonymous reviewer, for constructive comments on drafts of the manuscript.





**FIGURE 1.** Lengths at recapture and days at liberty after tagging for tetracycline-injected bigeye recovered, and numbers of otoliths used in the analysis of increment deposition rate.

**FIGURA 1.** Tallas de recaptura y días en libertad después del marcado de los patudos inyectados con tetraciclina y recuperados, y números de otolitos usados en el análisis de la tasa de deposición de incrementos.



**FIGURE 2.** Photomicrograph of a right bigeye sagittal otolith (A) and frontal section (B) of a right bigeye sagittal otolith. Bar = 2 mm in A and B. **Pr:** Primordium or point of original growth; **R:** Rostrum (anterior); **V:** Ventral edge; **P:** Postrostrum; **A:** Antirostrum.

**FIGURA 2.** Fotomicrografía del otolito sagital derecho de un patudo (A) y una sección frontal (B). Barra = 2 mm en A y B. **Pr:** Primordio, o punto de crecimiento original; **R:** Rostro (anterior); **V:** Borde ventral; **P:** Postrostro; **A:** Antirostro.

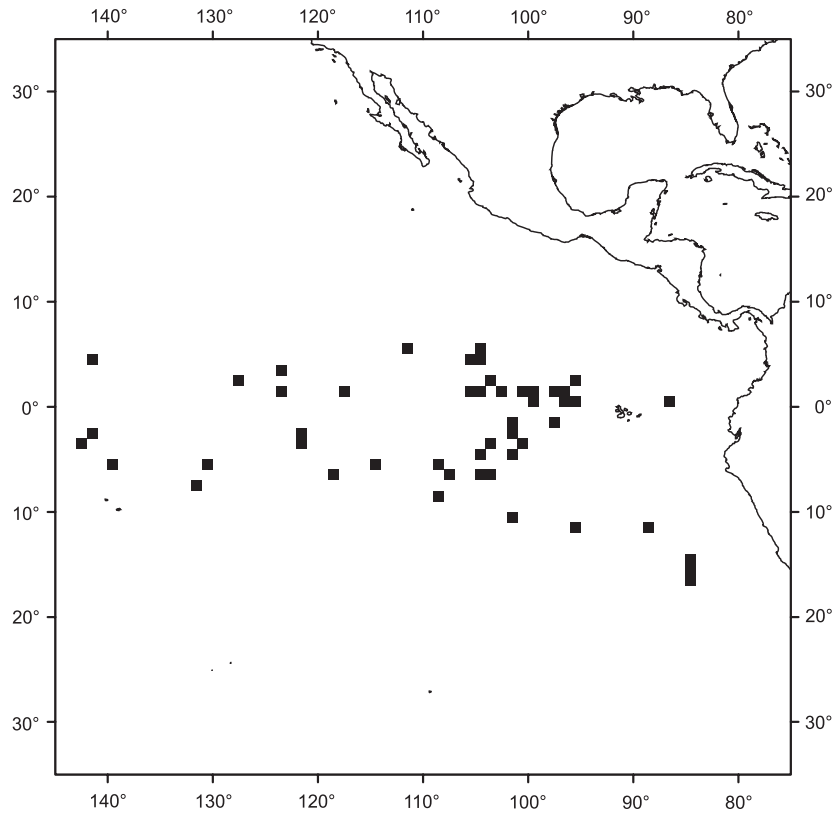
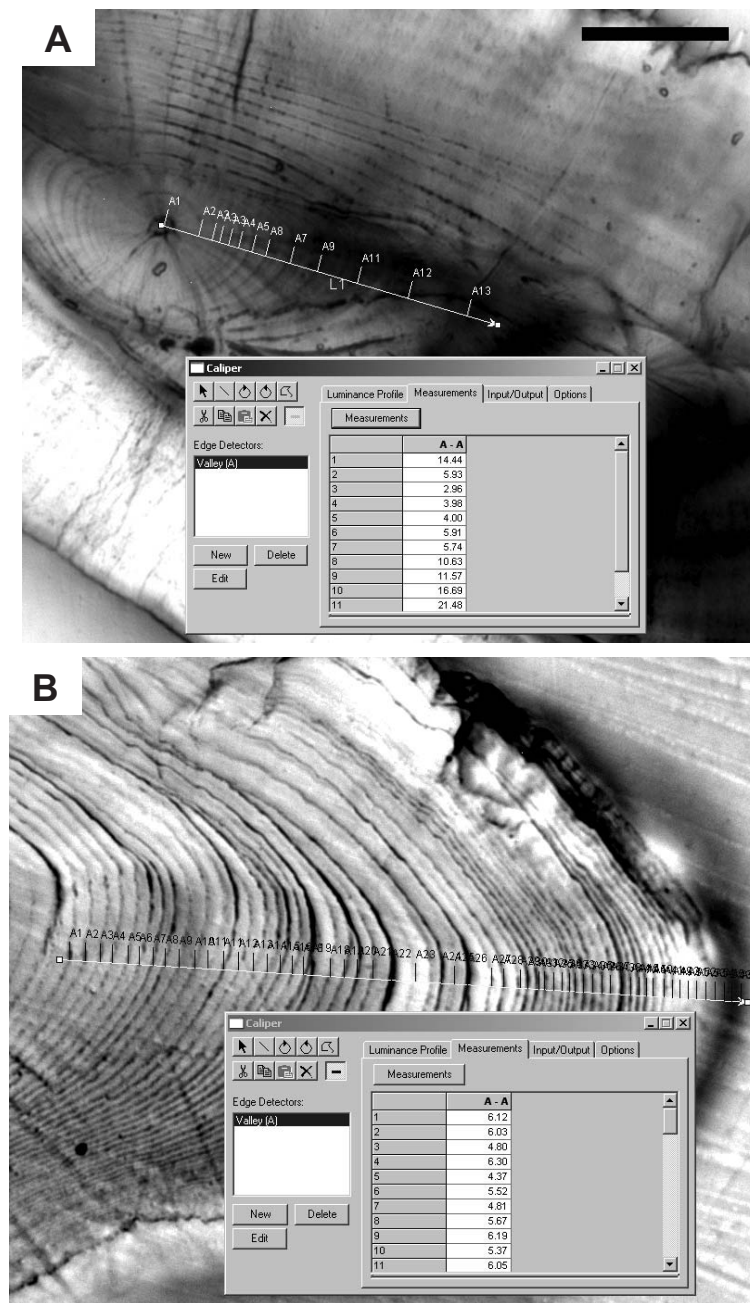


FIGURE 3. Geographical distribution of bigeye sampled.

FIGURA 3. Distribución geográfica de los patudos muestreados.



**FIGURE 4.** Counting path of frontal section of a bigeye sagittal otolith, beginning at the primordium (A) and ending near the post-rostral tip (B), as seen within Image-Pro Plus, including; line, counts, and measurements. Bar = 65 microns in A and B.

**FIGURA 4.** Ruta de conteo en secciones frontales del otolito sagital, comenzando en el primordio (A) y terminando cerca de la punta postrostral (B), vista en Image-Pro Plus, incluyendo; línea, conteos, y medidas. Barra = 65 micrones en A y B.

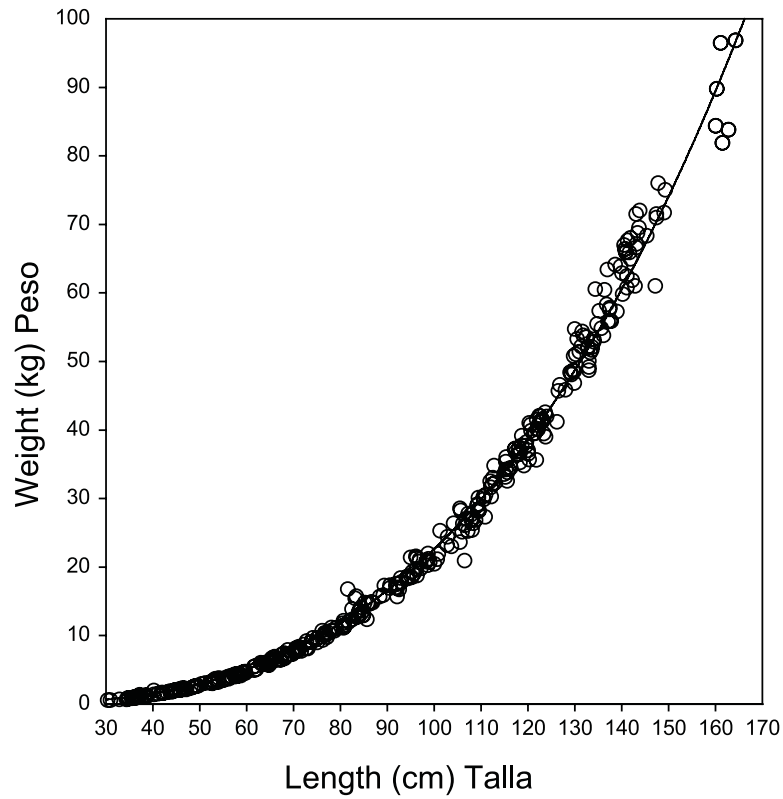
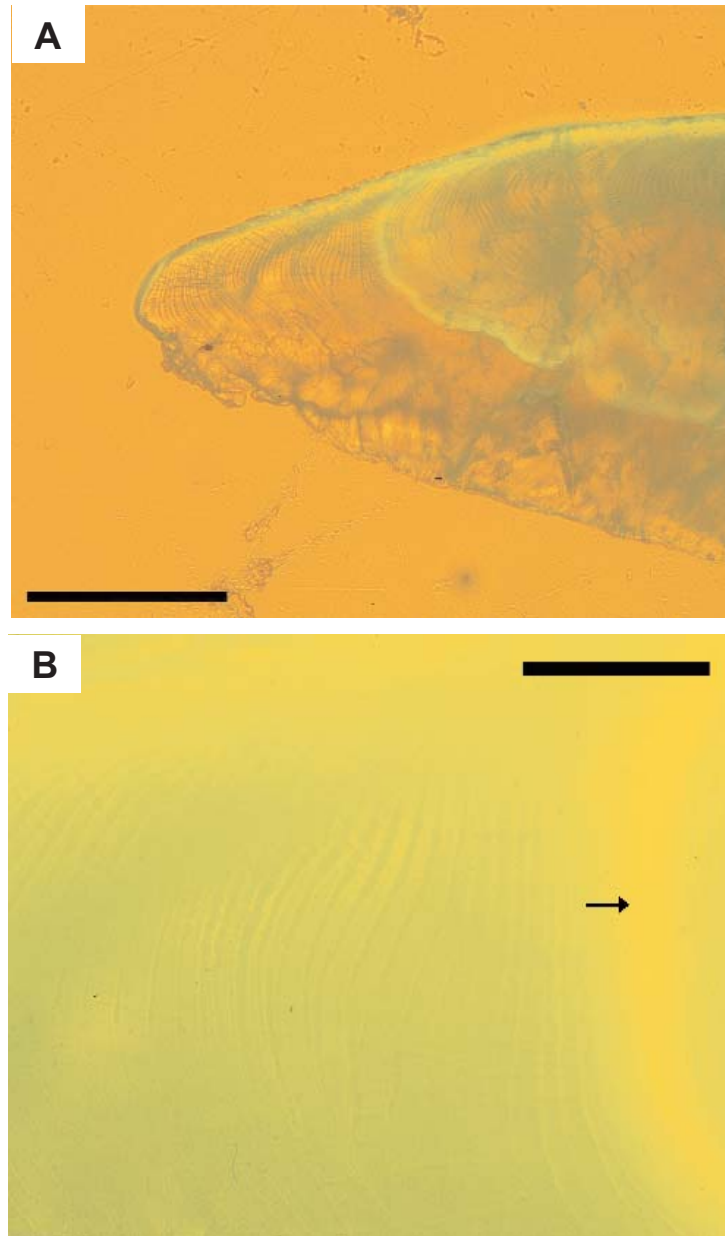
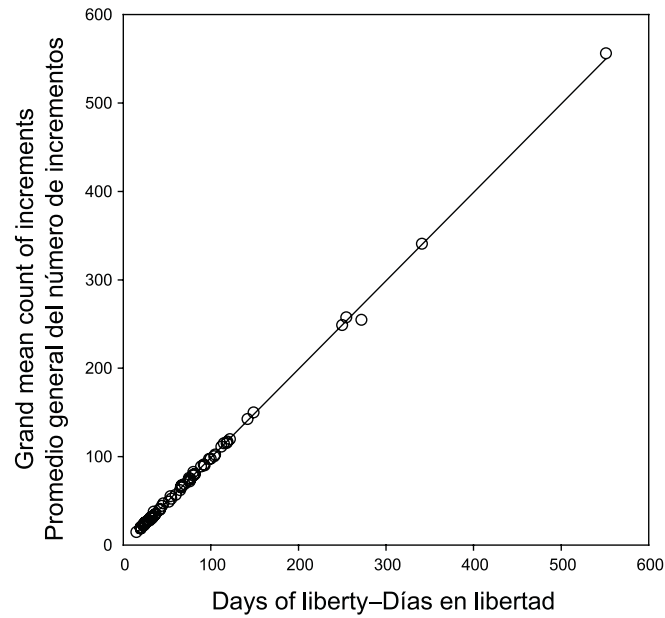


FIGURE 5. Relationship between weight and length for bigeye sampled during 2001-2004.  
FIGURA 5. Relación entre peso y talla de los patudos muestreados durante 2001-2004.



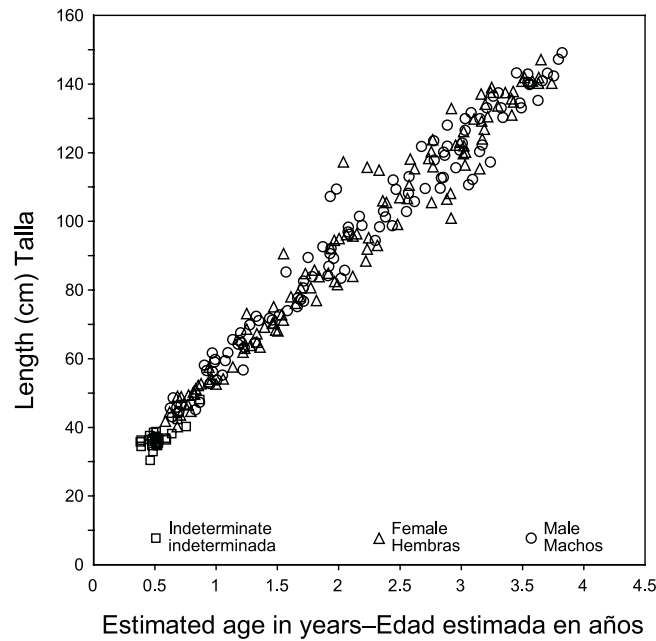
**FIGURE 6.** Photomicrographs of a frontal section from a tetracycline-injected bigeye sagittal otolith, using incident ultraviolet light. Counting path from tetracycline mark to postrostral tip (A) and higher magnification of the tetracycline mark and individual increments (B). Arrows indicate tetracycline mark. Bar = 150 microns in A; 20 microns in B.

**FIGURA 6.** Fotomicrografías de la sección frontal del otolito sagital de un patudo inyectado con tetraciclina, tomada bajo luz ultravioleta incidental. Ruta de conteo de la marca de tetraciclina a la punta postrostral (A), y mayor ampliación de la marca de tetraciclina y los incrementos individuales (B). Las flechas indican la marca de tetraciclina. Barra = 150 micrones en A; 20 micrones en B.



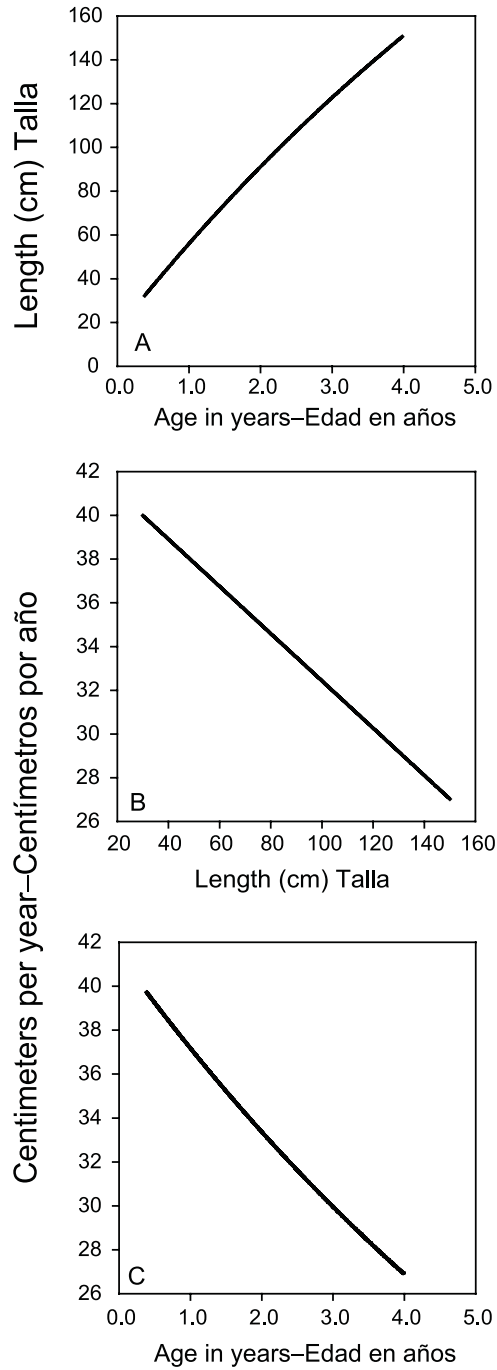
**FIGURE 7.** Relationship between grand mean increment count on frontal sections of bigeye sagittal otoliths and days at liberty after tagging and injection with tetracycline.

**FIGURA 7.** Relación entre el conteo medio general de incrementos en la sección frontal del otolito sagital de los patudos y días en libertad tras ser marcados e inyectados con tetraciclina.



**FIGURE 8.** Growth in length of bigeye tuna in the eastern Pacific Ocean.

**FIGURA 8.** Crecimiento en talla del atún patudo en el Océano Pacífico oriental.



**FIGURE 9.** Relationships between length and estimated age (A), growth rate and length (B), and growth rate and estimated age (C), predicted from the von Bertalanffy model parameters in Table 2.

**FIGURA 9.** Relaciones entre talla y edad estimada (A), tasa de crecimiento y talla (B), y tasa de crecimiento y edad estimada (C), predicha con los parámetros del modelo de von Bertalanffy en la Tabla 2.



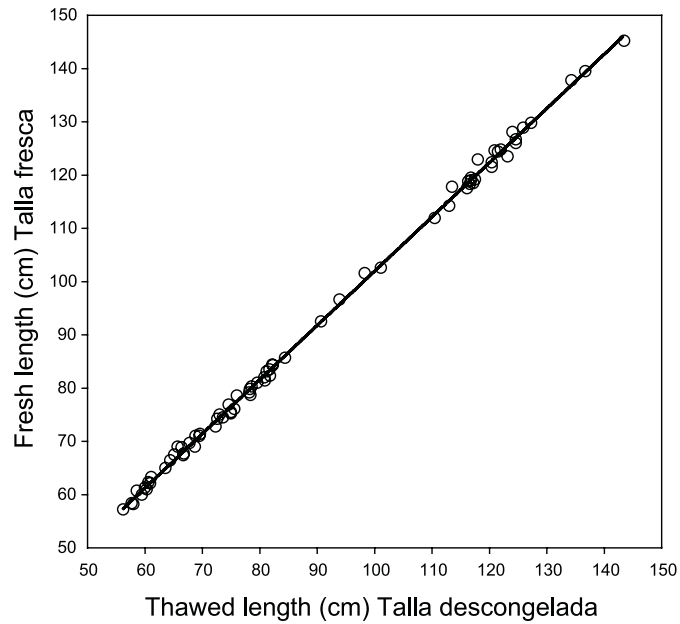


FIGURE 10. Relationship between fresh length and thawed length.

FIGURA 10. Relación entre talla fresca y talla descongelada.

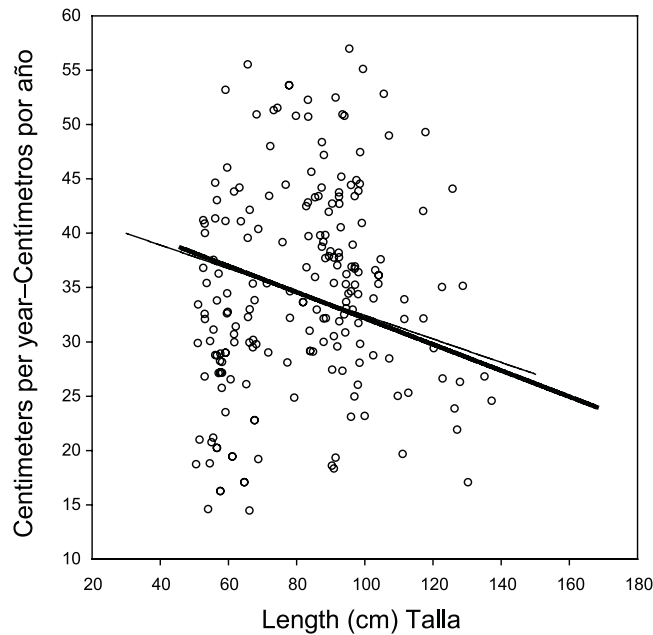
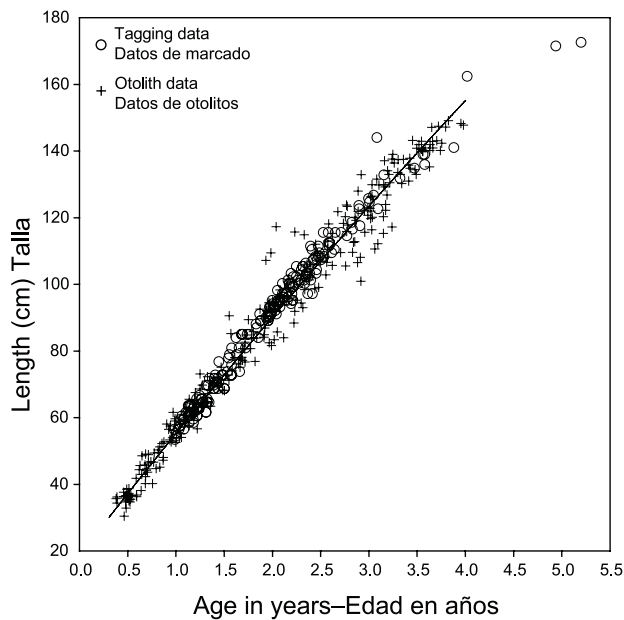


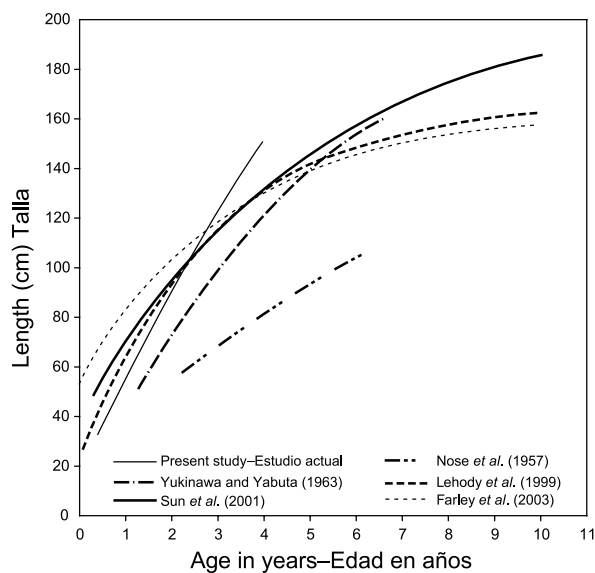
FIGURE 11. Growth rates from the von Bertalanffy models fit to the tagging data (thicker line) and from the length-at-age data (thinner line). The open circles are the mean lengths from the tagging data.

FIGURA 11. Tasas de crecimiento de los modelos de von Bertalanffy ajustadas a los datos de marcado (línea gruesa) y de los datos de talla a edad (línea delgada). Los círculos abiertos son las tallas medias de los datos de marcado.



**FIGURE 12.** Estimate of age at length from the otolith increment counts, compared to estimated age at length from tagging data. The relationship derived from the von Bertalanffy model parameters in Table 2, between length and estimated age from the otolith data is shown.

**FIGURA 12.** Estimación de edad a talla basada en los conteos de incrementos en los otolitos, comparada con la talla de edad estimada a partir de datos de marcado. Se muestra la relación derivada de los parámetros del modelo de von Bertalanffy en la Tabla 2, entre talla y edad estimada a partir de los datos de otolitos.



**FIGURE 13.** Growth curves for Pacific bigeye, based on von Bertalanffy model parameters, obtained by various investigators.

**FIGURA 13.** Curvas de crecimiento del patudo del Pacífico, basadas en los parámetros del modelo de von Bertalanffy, obtenidas por varios investigadores.

**TABLE 1.** Bigeye for which ages were estimated from counts of otolith increments.**TABLA 1.** Patudos cuya edad fue estimada a partir de conteos de incrementos de otolitos.

Length range	Sex			Total
	Indeterminate	Females	Males	
Rango de tallas	Sexo			Total
	Indeterminado	Hembras	Machos	
30.0–39.9	25			25
40.0–49.9	3	11	9	23
50.0–59.9		10	10	20
60.0–69.9		10	10	20
70.0–79.9		10	10	20
80.0–89.9		10	10	20
90.0–99.9		11	10	21
100.0–109.9		8	11	19
110.0–119.9		11	10	21
120.0–129.9		11	12	23
130.0–139.9		12	10	22
140.0–149.9		10	10	20
<b>Totals</b>	28	114	112	254

**TABLE 2.** Model parameters for predicted length and age of bigeye used in the equations given in the text.**TABLA 2.** Parámetros de modelo para talla y edad predichas de patudo usados en las ecuaciones en el texto.

Model–Modelo	$Y_{\infty}$	$K$	$t_0$	$r^2$	$n$
Length (females)–Talla (hembras)	513.8	0.079	-0.458	0.96	114
Length (males)–Talla (machos)	418.9	0.099	-0.477	0.97	112
Length (all)–Talla (todos)	400.3	0.108	-0.398	0.98	254
Age (all)–Edad (todos)	807.7	0.047	-0.493	0.97	254

**TABLE 3.** Predicted lengths at age, predicted weights, and growth rates for bigeye from equations given in text.

**TABLA 3.** Tallas a edad predichas, pesos predichos, y tasas de crecimiento de patudo, de ecuaciones en el texto.

Age (years)	Length (cm)	Weight (kg)	Growth rate (cm/year)
Edad (años)	Talla (cm)	Peso (kg)	Tasa de crecimiento (cm/año)
0.50	36.2	1.0	39.3
0.75	46.7	2.1	38.2
1.00	56.1	3.7	37.2
1.25	65.2	5.9	36.2
1.50	74.2	8.8	35.2
1.75	82.9	12.4	34.3
2.00	91.3	16.7	33.4
2.25	99.6	21.8	32.5
2.50	107.6	27.6	31.6
2.75	115.4	34.3	30.8
3.00	123.0	41.7	29.9
3.25	130.4	49.9	29.2
3.50	137.5	58.7	28.4
3.75	144.6	68.6	27.6
4.00	151.3	78.8	26.9

TABLE 4. Average linear growth rates (cm/month) for recaptured bigeye at liberty for 30 days or more.  
 TABLA 4. Tasas promedias de crecimiento lineal (cm/mes) de patudos recapturados en libertad para 30 días o más.

Mean length		Days at liberty			Females			Males			Totals		
Release	Recapture				Number	Growth rate	Number	Growth rate	Number	Growth rate	Number	Growth rate	
Talla promedio		Días en libertad			Hembras			Machos			Totales		
Liberación	Recaptura				Número	Tasa de crecimiento	Número	Tasa de crecimiento	Número	Tasa de crecimiento	Número	Tasa de crecimiento	
59.0	65.1	30-90	30-90	1	4.47	1	4.47	42	2.81				
59.8	70.3	91-180	91-180	5	1.74	5	2.64	54	2.71				
66.5	96.5	>180	>180	2	2.89	2	2.89	8	2.84				
87.8	94.8	30-90	30-90	2	3.42	2	3.42	23	3.32				
87.7	100.1	91-180	91-180	4	2.56	3	2.56	41	3.09				
88.9	118.8	>180	>180	7	2.73	5	3.13	19	2.83				
110.4	116.2	30-90	30-90					5	2.77				
109.3	121.6	91-180	91-180					5	3.27				
112.6	131.4	>180	>180	2	2.21	3	1.99	8	2.03				



**ESTIMACIONES DE LA EDAD Y EL CRECIMIENTO DEL ATÚN PATUDO (*THUNNUS OBESUS*) EN EL OCÉANO PACÍFICO ORIENTAL, BASADAS EN INCREMENTOS DE LOS OTOLITOS Y DATOS DE MARCADO**

por

**Kurt M. Schaefer y Daniel W. Fuller****RESUMEN**

Experimentos de marcado y de inyección con hidrocloreuro de oxitetraciclina (OTC) realizados en el Océano Pacífico oriental (OPO) y central demostraron que el atún patudo (*Thunnus obesus*), en el rango de tallas de 38 a 135 cm, deposita incrementos diarios en los otolitos sagitales. Las secciones frontales, a lo largo del primordio al eje postrostral, de los otolitos sagitales brindaron una ruta de conteo óptima para resolver los incrementos diarios, con microscopio de luz, para los peces de hasta 4 años de edad. El número de incrementos contado en las sagitas de 254 patudos (de 30 a 149 cm), capturados por buques de cerco en el OPO entre 2000 y 2004, fue usado como estimación directa de su edad en días. Se describe el crecimiento del patudo en el OPO en términos de su talla, con base en el ajuste del modelo de von Bertalanffy a los datos de talla a edad. Los modelos derivados para hembras y machos no fueron significativamente diferentes. Se elaboraron también ecuaciones para predecir la edad y peso a partir de los datos de talla. Se estima también el crecimiento del patudo en el OPO a partir del ajuste de un modelo de von Bertalanffy a un conjunto de datos de 205 patudos marcados en el OPO y recapturados entre 2000 y 2004. La tasa de crecimiento derivada de los datos de marcado fue comparada con aquella de los datos de talla a edad, y los dos conjuntos independientes de datos muestran disminuciones similares en el crecimiento con aumentos de la talla.

**Palabras clave:** atún patudo, crecimiento, edad, marcado, Océano Pacífico, otolitos

**INTRODUCCIÓN**

El atún patudo, *Thunnus obesus*, vive en las aguas tropicales y subtropicales de los Océanos Pacífico, Índico, y Atlántico (Collette y Nauen, 1983; Collette *et al.*, 2001). Estudios de marcado de patudo realizados en el Océano Pacífico oriental, central, y occidental señalan fidelidad regional, con poca mezcla entre regiones adyacentes (Hampton y Gunn, 1998; Hampton *et al.*, 1998; Itano y Holland, 2000; Schaefer y Fuller, 2002, 2005a).

El patudo se encuentra comúnmente distribuido durante el día a profundidades de 250-300 m, pero ocurre también a menos de 50 m cuando está asociado con objetos flotantes (Schaefer y Fuller, 2002, 2005b). El patudo ha sido el blanco principal de los buques palangreros que pescan en el Océano Pacífico oriental (OPO) desde la década de 1950 (Hampton *et al.*, 1998; Miyabe y Bayliff, 1998). Desde 1994, las capturas palangreras de patudo en el OPO han disminuido de forma significativa, y las capturas cerqueras de la especie, como resultado del esfuerzo de pesca dirigido hacia los atunes asociados con dispositivos agregadores de peces (plantados), han aumentado de forma significativa, creando incertidumbre acerca de la sostenibilidad de los niveles recientes de explotación (Anónimo, 2004; Maunder y Hoyle, 2006).

Aunque es esencial información precisa sobre la edad y el crecimiento para poder realizar evaluaciones completas de la población de patudo, no se ha realizado previamente ningún estudio de la edad validada de esta especie en el OPO. Los datos de talla a edad permiten formular estimaciones de la tasa de crecimiento, y posibilitan la incorporación de características específicas por edad, tales como la mortalidad y la fecundidad, en los modelos de dinámica de poblaciones.

Las tasas de crecimiento pueden también ser estimadas mediante el ajuste de modelos de crecimiento directamente a los cambios de talla obtenidos de estudios de marcado y recaptura.

La edad y el crecimiento del atún patudo del Océano Pacífico han sido estimados a partir de datos de frecuencia de talla (Iversen, 1955; Shomura y Keala, 1963; Yukinawa y Yabuta, 1963; Kume y Joseph, 1966; Shomura, 1966; Suda y Kume, 1967), estudios de marcado (Lehody *et al.*, 1999), y marcas temporales en las escamas (Nose *et al.*, 1957; Yukinawa y Yabuta, 1963), otolitos (Matsumoto, 1998; Lehody *et al.*, 1999; Kato, 2001; Farley *et al.*, 2003), y espinas dorsales (Sun *et al.*, 2001). Existen asimismo varios estudios de la edad y el crecimiento del patudo del Océano Atlántico, analizados por Brown (2005), y estudios en el Océano Índico, usando vértebras y escamas (Tankevich, 1982) y otolitos y espinas dorsales (Stequert y Conand, 2004).

Estudios recientes de la edad de peces marinos han utilizado la ocurrencia de deposición rítmica de marcas naturales en estructuras calcificadas como indicadores de tiempo. Los otolitos sagitales han sido utilizados para la validación directa de las estimaciones de edad en otras especies del género *Thunnus* (Wild y Foreman, 1980; Laurs *et al.*, 1985; Wild *et al.*, 1995; Foreman, 1996; Clear *et al.*, 2000). La edad del atún patudo puede ser estimada con mayor precisión a partir de los otolitos sagitales, siempre que se sepa la tasa de deposición de las marcas naturales (Beamish y McFarlane, 1983; Secor *et al.*, 1995; y Campana, 2001).

Los objetivos de la presente investigación fueron: (1) validar la periodicidad de los incrementos formados en las secciones frontales de otolitos sagitales marcados con hidrocloreto de oxitetraciclina (OTC), de patudos marcados y recuperados en el Océano Pacífico central y oriental; (2) estimar la edad de patudos muestreados de la captura del OPO a partir de conteos de los incrementos en los otolitos; (3) evaluar la edad y el crecimiento del patudo, por sexo, a partir de datos de edad a talla; (4) evaluar el crecimiento del patudo en el OPO a partir de datos de marcado; y (5) comparar las estimaciones del crecimiento basadas en datos de talla a edad con aquéllas derivadas de datos de marcado del OPO.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación consiste en cuatro componentes separados: (1) experimentos de marcado y recaptura e inyección con OTC para investigar la tasa de deposición de incrementos en la sección frontal de los otolitos y su utilidad para la estimación de la edad y el crecimiento del patudo; (2) el muestreo sistemático de la captura comercial de patudo por buques cerqueros en el OPO para los otolitos y la información de talla correspondiente, a fin de estimar la edad a talla y evaluar las tasas de crecimiento por sexo; (3) análisis de datos de marcado y recaptura del OPO para estimar las tasas de crecimiento y compararlas con aquéllas de los datos de edad a talla; y (4) un experimento para evaluar los efectos de la muerte, congelación, y descongelación subsiguiente para ajustar las tallas de recaptura de atunes patudo marcados para la estimación de las tasas de crecimiento.

### *Liberación de marcas y marcado de otolitos*

OTC, un fluorocromo calcifílico, tras ser inyectado en los músculos y absorbido en el sistema circulatorio, es incorporado en el incremento en desarrollo al borde del otolito, que puede entonces ser detectado por su fluorescencia bajo luz ultravioleta (Wild y Foreman, 1980; Foreman, 1996).

Durante 1995 y 1996, 1.043 patudos, de 36 a 105 cm de talla furcal (punta de la mandíbula superior a la cauda furcal), capturados principalmente con líneas de mano de superficie y curricán vertical, fueron medidos al centímetro más cercano, marcados con marcas de dardo plásticas de 12 cm, individualmente numeradas (Hallprint, Pty., 2005), inyectados simultáneamente



intermuscularmente justo debajo de la primera aleta dorsal con aproximadamente 0,25 ml/kg de solución de OTC a 100 mg/ml, usando métodos similares a aquéllos descritos por Wild y Foreman (1980) y Foreman (1996), y liberados al oeste sudoeste de la isla de Hawai. Las marcas fueron insertadas, usando aplicadores tubulares de acero inoxidable, en la musculatura dorsal, pasando las puntas, armadas de lengüetas, entre los pterigóforos debajo de la base de la segunda aleta dorsal. Se usó para las inyecciones una jeringa desechable Becton-Dickinson de 3 ml, con una aguja de calibre 18 y 34 mm de largo. Las marcas llevaban impresa la información para reportar la recuperación de los peces.

Durante 2000 y 2002-2004, 1.094 patudos, de entre 46 y 139 cm de talla, capturados con caña y anzuelo, artes deportivas, y línea de mano, fueron medidos al centímetro más cercano, marcados, de la forma descrita en el párrafo anterior, con marcas de dardo plásticas de 12 cm, individualmente numeradas, amarillas, o verdes en combinación con marcas archivadoras (para almacenar datos) (Schaefer y Fuller, 2002), inyectados con OTC, y liberados en el OPO ecuatorial entre aproximadamente 2°N y 2°S y 95°O y 97°O. Se usó para las inyecciones una jeringa con alimentador automático, con una aguja de calibre 18 y 34 mm de largo. Las marcas llevaban impresa la información para reportar la recuperación de los peces.

### ***Recuperación de las marcas***

Los métodos utilizados en el marcado del patudo y la recuperación de la información de recaptura de marcas son similares a aquéllos descritos por Bayliff y Holland (1986). Casi todas las devoluciones de marcas de patudo provienen de estibadores que descargan buques cerqueros, y que rara vez miden los pescados, pero a menudo reportan información de talla imprecisa. Elegimos usar un subconjunto de los datos de marcado de patudo con un alto grado de certidumbre en las tallas de recaptura. Casi todos los datos en este subconjunto provienen de patudos recuperados y medidos (después de ser descongelados) con calibre, al milímetro más cercano, por personal de las oficinas regionales de la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT). El subconjunto de datos de marcado se basa en liberaciones y recapturas de patudo entre el 15 de abril de 2000 y el 26 de diciembre de 2004, en el Océano Pacífico oriental y central.

Fueron recuperados los otolitos de 46 de 101, y 81 de 424 patudos recapturados, previamente marcados e inyectados con OTC durante los viajes de marcado iniciados frente a Hawai y en el OPO, respectivamente. A fin de minimizar la redundancia en las tallas y tiempos en libertad de estas muestras de otolitos, pero al mismo tiempo optimizar el rango de tallas para el cual se validaría la tasa de deposición de incrementos, seleccionamos un subconjunto de 70 otolitos, 26 de Hawai y 44 del OPO, para un rango de tallas (de recaptura) de 38 a 135 cm, y tiempos en libertad de entre 15 y 551 días (Figura 1).

### ***Experimento de encogimiento***

A fin de evaluar la contracción potencial de la talla del patudo causada por la muerte, congelación, y descongelación, entre mayo y agosto de 2005 se realizó un experimento en la oficina de la CIAT en Manta (Ecuador). Los observadores a bordo de buques cerqueros tomaron muestras de hasta 50 patudos, de todo el rango de tallas disponible, durante cuatro viajes separados. La talla de cada pez fue medida con calibre al milímetro más cercano, a menos de una hora del momento de captura, y una marca con un código numérico fue sujeta al pedúnculo caudal del pez, que entonces fue colocado en las bodegas de salmuera del buque y congelado. Una vez terminado el viaje, durante la descarga del buque en la enlatadora, los peces marcados fueron recogidos y mantenidos en contenedores en la congeladora de la enlatadora hasta que fueron

descongelados para ser procesados. Los peces descongelados fueron medidos con calibre al milímetro más cercano. En el momento de ser medidos esta segunda vez, no se supo la talla original del pez fresco, para evitar sesgos.

### ***Muestreo de la captura del Pacífico oriental***

En enero de 2001 se inició, en las oficinas de la CIAT en Manta y Las Playas (Ecuador), un programa de muestreo diseñado para obtener otolitos sagitales e información sobre tallas de la captura comercial en el OPO. Se tomaron en enlatadoras muestras de patudo capturado con red de cerco en 12 clases de talla de 10 cm, entre 30 y 150 cm. Se seleccionaría un mínimo de 15 peces de cada sexo en cada una de las 12 clases de talla, para un total de 360 especímenes; se obtuvieron otolitos de 378 peces, datos de talla y peso para 372 de éstos. Las muestras provinieron de 54 lances cerqueros, ocurridos en el OPO entre el 20 de diciembre de 2000 y el 30 de julio de 2004 entre 5°29'N y 16°05'S y 84°23'O y 142°27'O (Figura 3).

Cada pez fue medido con calibre al milímetro más cercano y pesado con una balanza electrónica de plataforma a los 10 gramos más cercanos. Se cortó la cavidad del cuerpo con cuchillo, se extrajeron las gónadas, y se determinó el sexo, en todo caso posible, mediante un examen macroscópico o microscópico (en casos justificados). Se tomaron los otolitos sagitales de cada espécimen.

Para cada espécimen muestreado se obtuvieron de los registros del observador los datos de lugar y fecha de captura, más otra información del lance.

### ***Preparación y análisis de otolitos marcados con OTC***

Cada pareja de otolitos extraída de un pez fue limpiada en una solución de hipoclorito de sodio (lejía) para separar el tejido adherido, usando un pincel de pelo de marta fino (3/0), manipulándolos con fórceps. Los otolitos fueron entonces enjuagados en agua destilada, y colocados primero en papel absorbente para secar, y luego en cápsulas BEEM<sup>®</sup> emparejadas en un contenedor de plástico. Los contenedores fueron almacenados en un lugar oscuro para evitar fotolisis de la marca (Weber y Ridgway, 1967; Chilton y Beamish, 1982; Morales-Nin, 1992).

La sección frontal, a lo largo del primordio al eje postrostral, de los otolitos sagitales (Figura 2) parecen brindar una ruta de conteo óptima en los otolitos del atún patudo, ya que es la ruta más larga, y los incrementos son más anchos que en las secciones transversales (Wild y Foreman, 1980; Secor *et al.*, 1991). Se seleccionó para la preparación cualquiera de los dos otolitos de una pareja que pareciera tener menos anomalías y obstrucciones potenciales en la ruta de conteo, porque estudios previos con especies de *Thunnus* (Wild y Foreman, 1980; Laurs *et al.*, 1985; Farley *et al.*, 2003) indicaron que el número de incrementos en la sagita izquierda y derecha no es significativamente diferente.

Se inició la preparación de un otolito llenando un molde con resina epoxídica Buehler EPOXYCURE<sup>™</sup> hasta cubrir el fondo. Se dejó a la resina secar en un horno a 40°C durante 24 horas. Una vez completamente sólida la resina, se colocó el otolito en el molde, con el sulcus hacia arriba. Tras colocar varios otolitos en moldes, se añadió más resina a los moldes. Es imperativo cubrir los otolitos completamente con resina, y procurar no permitir que se formen burbujas de aire entre la resina y la superficie del otolito, especialmente en el sulcus. Hecho eso, se colocaron los moldes de nuevo en el horno a 40°C durante 24 horas.

El bloque de resina, con el otolito dentro, fue sacado del molde y examinado con un estereomicroscopio, y se marcaron con puntos, usando un rotulador permanente de punta fina, exactamente la punta postrostral (P) y el primordio (Pr) (Figura 2A), el eje en el que se cortó una sección

frontal. Se usaron estas marcas como referencias al sujetar el otolito a una sierra Buehler Isomet de baja velocidad para seccionarlo. Es crítico que el otolito esté correctamente alineado para seccionar porque, si no se obtienen la punta postrostral y/o el primordio en la sección, los conteos serán imprecisos. Se logró una alineación óptima con una lupa de 10X con iluminación montada en un brazo radial. Se cortaron las secciones delgadas con dos hojas de diamante con un separador de 0,5 mm entre los dos. Se seleccionó el grosor de 0,5 mm para cortar las secciones, después de experimentar, para optimizar la probabilidad de incluir la punta postrostral y el primordio en cada sección.

La sección fue entonces montada en un portaobjetos de microscopio con pegamento termoplástico Crystalbond™ mientras era calentado a 130°C en un hornillo. Se retiró el portaobjetos del hornillo y se dejó enfriar unos minutos. Una vez frío, se examinó con el microscopio compuesto (150X) para determinar el grado de pulido necesario para obtener una ruta de conteo óptima.

Se evaluó individualmente el grado de pulido necesario para cada sección de otolito, ya que hubo variación entre secciones. La meta era pulir hasta el primordio y la punta postrostral sin eliminar ninguno de los dos, para así tener una sección que fuese legible a lo largo del eje entero. Si era necesario pulirlo mucho, se comenzó el proceso con papel de lija de grado 400 para raer rápidamente la superficie de lectura. Si no era necesario mucho pulido, se usó film pulidor 3M de 30, 15, ó 5  $\mu$ . En ambos casos, se prefiere pasar de un material más abrasivo a uno menos abrasivo para eliminar todas las ralladuras. Se realizó el pulido final con una pasta de pulir de alúmina de 0,3  $\mu$  y tela de pulir. Es importante mirar la sección de otolito frecuentemente bajo el microscopio compuesto durante el proceso de pulido para determinar cuánto más necesita ser pulido para alcanzar la profundidad deseada. Una vez alcanzada la profundidad deseada (cerca del primordio y la punta postrostral), se volvió a colocar el portaobjetos en el hornillo a 130°C para licuar el Crystalbond™ y permitir dar la vuelta a la sección de otolito, usando fórceps finos, para poder pulirla más. Se debe tener cuidado al dar la vuelta a la sección, ya que es muy fina y frágil, y es fácil romperla. Se continuó el pulido de la forma antes descrita, prestando atención para no pulir ninguna parte de la sección hasta agujerearla.

El último paso en la preparación de una sección frontal del otolito es el grabado con ácido. Se usa esto para decalcificar más la sección para una mejor transmisión de luz, elucidar los incrementos que son difíciles de ver, y aumentar el contraste entre las zonas oscuras y claras de los incrementos diarios (Panella, 1971; Campana y Neilson, 1985; Morales-Nin, 1992). Para este proceso, se aplicó ácido etileno diamino tetraacético (AEDT) al 5% directamente a la superficie del otolito durante 90 segundos. Al cabo de los 90 segundos, se lavó bien la sección con agua desionizada para detener el proceso de grabado. La sección fue observada una vez más bajo el microscopio compuesto para verificar que no fue grabado excesivamente.

### ***Conteo de los incrementos***

Se estimó la tasa de deposición de los incrementos mediante el conteo de los incrementos entre las marcas fluorescentes y el borde de la punta postrostral de los otolitos de peces marcados e inyectados que fueron recapturados subsecuentemente, y la comparación de los conteos con el número de días en libertad. Se localizó inicialmente la marca amarilla característica de la OTC con fluorescencia inducida por la luz ultravioleta de una lámpara de mercurio de 200 vatios, y luego se identificó el incremento específico mediante la introducción paulatina de luz visible transmitida. La longitud de la onda de excitación de la luz ultravioleta fue limitada por una combinación de filtros BG-12, B (500 nm) y V (400 nm), y la autofluorescencia reducida por un filtro de barrera de 530 nm. Se contaron los incrementos en las secciones a lo largo del eje primordio-postrostral desde la marca de la OTC hasta la punta del postrostro, usando aceite

de inmersión con un microscopio de luz Olympus Vanox a una ampliación de 900X (objetivo SplanApo60X; oculares WF15X).

Inicialmente se seleccionaron cinco parejas de secciones de otolito, y se usó el número de días en libertad para elaborar los criterios de qué es lo que constituye un incremento. Cada una de las 70 secciones de otolito usadas en el estudio de la tasa de deposición de incrementos fue asignada un código, y no se supo el número de días en libertad en el momento de realizar la lectura de los otolitos. Los incrementos en cada sección fueron contados cinco veces, y promediados para obtener estimaciones finales por cada uno de dos lectores. Una prueba de  $t$  de muestras emparejadas no indicó ninguna diferencia significativa entre los conteos de los dos lectores ( $t = -0,13$ ,  $DF = 69$ ,  $P > 0,05$ ). Se calcularon promedios generales a partir de los conteos medios de los dos lectores, y fueron usados en los análisis subsiguientes.

### ***Procesamiento de los otolitos para la estimación de la edad***

Se midió la longitud de las rutas de conteo previstas, usando el sistema de imágenes digital descrito a continuación, en conjunto con un microscopio de disección Nikon SMZ-10. Los otolitos obtenidos de la captura comercial fueron preparados, siguiendo la metodología descrita en la sección anterior titulada ***Preparación y análisis de otolitos marcados con OTC***.

En la Tabla 1 se detalla el número de especímenes de patudo, por intervalo de clase de talla y sexo, cuya edad fue estimada a partir de conteos de los incrementos en la sección frontal del otolito sagital.

Se contaron y midieron los incrementos con un Sistema de Imágenes Digital (SID). El sistema consistió en un microscopio compuesto Nikon OPTIPHOT, una cámara digital Diagnostic Instruments (2002) SPOT RT, una computadora con un monitor LCD de 43 cm, y el software Image-Pro Plus (IP+) (Media Cybernetics, 2002). Las secciones preparadas fueron observadas a través de un objetivo seco Nikon 40X Plan con luz transmitida, produciendo una ampliación absoluta de 1425X. Antes de capturar las imágenes y contar los incrementos, se usaron filtros de luz de densidad neutra (6,85%) y verde para aumentar el contraste, y se calibró el sistema para asegurar que las medidas fueran precisas, mediante la captura de imágenes de un micrómetro de etapas y la calibración de estas imágenes en el monitor LCD en IP+ (Media Cybernetics, 2002).

El campo de vista limitado con esta ampliación requirió que se capturaran numerosas imágenes con la cámara SPOT y se juntaran en IP+. La cámara SPOT tiene un obturador electrónico que permite mostrar imágenes en tiempo real en el monitor LCD en IP+; esto permite al usuario ajustar con precisión el enfoque y la posición de la sección para optimizar la vista de los incrementos antes de capturar una imagen. En este momento se captura la imagen y es almacenada automáticamente para uso posterior. Antes de capturar la próxima imagen se mueve la plataforma del microscopio para avanzar un marco en la ruta de conteo; o sea, el borde inferior de la imagen recién capturada coincide con el borde superior de la nueva imagen. Se repite el proceso hasta que se haya capturado un transecto completo de la ruta de conteo; según la longitud de ésta, implica capturar entre 14 y 30 imágenes.

Se creó un mosaico de las imágenes capturadas, añadiendo cada imagen sucesiva para crear una reproducción final de la ruta de conteo (Figura 2B.) Se usó la herramienta de "calibre" en IP+ para contar y medir cada incremento (Figura 4), dibujando a mano líneas por la ruta de conteo en la que se cuentan y miden los incrementos (es posible contar y medir únicamente en una línea). En la mayoría de los casos, se usaron varias líneas, para asegurar que la línea cruzara los incrementos donde sean más visibles. Se ajustó el calibre para marcar y medir los incrementos automáticamente, detectando una rampa de color (tasa de cambio del valor numérico de cada pixel) específica definida por el usuario, y marcando ese punto con una marca roja (Figura 4). El

usuario podía manipular las marcas, añadiéndolas o sustrayéndolas, según procediese, para obtener un conteo y medida exactos. Una vez contados los incrementos en una línea, se transfirieron los conteos y las medidas correspondientes a una hoja de cálculo de Microsoft Excel, usando un Intercambio Dinámico de Datos (DDE) incorporado en IP+. Se añadió el conteo de cada línea sucesiva completado a la misma hoja de cálculo con la función DDE. Una vez terminado el conteo de la sección entera y añadidos todos los conteos y medidas a la hoja de cálculo, fue guardada con el número de la muestra correspondiente. Se añadió el conteo total a la hoja de cálculo principal, en la que se almacenaron todos los datos del muestreo.

## RESULTADOS

### *Relación peso-talla*

Fueron medidos y pesados en total 163 patudos machos, 165 hembras, y 54 de sexo indeterminado. En la Figura 5 se ilustra la relación entre el peso (en kilogramos) y la talla (en centímetros) de todos los patudos muestreados. Un análisis de covarianza (Zar, 1974) no señaló diferencias significativas en las pendientes ( $F = 0,13$ ;  $GL = 1, 324$ ;  $P > 0,05$ ) o elevaciones ( $F = 0,85$ ;  $GL = 1, 325$ ;  $P > 0,05$ ) de las relaciones peso-talla de hembras y machos. La relación peso-talla para todos los datos combinados fue expresada de la forma:

$$W = 0,000031865 L^{2,926} \quad (r^2 = 0,992, n = 382)$$

### *Tasa de deposición de incrementos en los otolitos*

La relación entre el número de incrementos desde la marca de la OTC hasta la punta postrostral y días en libertad es:

$$I = 0,9998D - 1,0353 \quad (r^2 = 0,999, n = 70)$$

donde  $I$  = promedio general del número de incrementos desde la marca de la OTC hasta la punta postrostral en una sección frontal del otolito, y  $D$  = días en libertad (Figuras 6 y 7). La pendiente de la línea no es significativamente diferente de 1 ( $t = 0,06$ ,  $GL = 69$ ,  $P > 0,05$ ). El intervalo de confianza de 95% alrededor del coeficiente de regresión de la pendiente es 0,99-1,01. Los resultados indican que el patudo en el rango de talla de 38 a 135 cm produce incrementos en los otolitos sagitales a intervalos diarios, y que los criterios adoptados para identificar estos incrementos en las secciones frontales de los otolitos son válidos. Si se supone que los incrementos son depositados con la misma frecuencia en los patudos de menos de 38 cm y de entre 135 y unos 150 cm, un conteo de los incrementos en la sección frontal de las sagitas debería brindar estimaciones exactas de la edad absoluta en días.

### *Tasas de crecimiento estimadas a partir de datos de otolitos*

En la Figura 8 se ilustran las relaciones entre talla y edad estimada, representante del crecimiento, de patudos de sexo indeterminado, hembras, y machos (Tabla 1).

Se ajustó la siguiente función de von Bertalanffy (1938) a los conjuntos de datos no transformados correspondientes a patudos hembras, machos, y los datos agrupados, usando un procedimiento de regresión no lineal:

$$Y_t = Y_\infty (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

donde  $Y_t$  = talla en el momento  $t$ ;  $Y_\infty$  = la talla asintótica;  $K$  = parámetro de crecimiento; y  $t_0$  = el intercepto del eje con  $t$ .

En la Tabla 2 se presentan los parámetros de crecimiento de von Bertalanffy derivados para cada uno de los conjuntos de datos. Un análisis de la suma de cuadrados residual (Zar,

1974; Chen *et al.*, 1992) que compara las ecuaciones de von Bertalanffy para hembras y machos señala que las tasas de crecimiento de los dos sexos no son significativamente diferentes ( $F = 0,54$ ;  $GL = 3, 220$ ;  $P > 0,05$ ).

Se ajustaron las funciones de Richards (1959), Gompertz y von Bertalanffy (Ricker, 1979; Seber y Wild, 1989) a los conjuntos de datos no transformados de talla y edad estimada de todos los datos de patudo presentados en la Tabla 1 y la Figura 8, usando un procedimiento de regresión no lineal. Se seleccionó la función de von Bertalanffy como el mejor ajuste con un mínimo de parámetros, en comparación con las funciones de Richards ( $F = -3,14$ ;  $GL = 1, 250$ ;  $P > 0,05$ ) y Gompertz ( $F = 8,49$ ;  $GL = 1, 251$ ;  $P < 0,05$ ) con base en una estadística aproximada de cociente F (Schnute, 1981). Se ajustó también un modelo sencillo de regresión lineal a los conjuntos de datos no transformados de talla y edad estimada de todos los patudos. Se seleccionó la función de von Bertalanffy en preferencia al modelo sencillo de regresión lineal, ya que su ajuste era significativamente mejor ( $F = 21,55$ ;  $GL = 1, 251$ ;  $P < 0,05$ ).

En la Figura 9A se ilustra la relación entre talla y edad estimada para todos los datos, basada en el modelo de crecimiento de von Bertalanffy. En la Tabla 2 se presentan los parámetros del modelo. En las Figuras 9B y 9C se ilustran las tasas de crecimiento derivadas de este modelo de von Bertalanffy, relativas a la talla y edad, respectivamente. Es aparente que la tasa de crecimiento disminuye a medida que aumentan la talla y edad. Se estiman las tasas de crecimiento a los 0,5 años (36,2 cm) y 4,0 años (151,3 cm) en 39,3 cm/año y 26,9 cm/año, respectivamente. En la Tabla 3 se presentan las tallas predichas, basadas en el modelo de von Bertalanffy para todos los datos (Tabla 2; Figura 9a), para el rango de edades estimadas, junto con los pesos y tasas de crecimiento predichos para esas tallas.

### ***Predicción de la edad***

Para predecir la edad a partir de las medidas de talla, se ajustó el siguiente modelo de von Bertalanffy transformado a los datos de  $t$  (edad estimada) e  $Y_t$  (talla), usando un procedimiento de regresión no lineal:

$$t = t_0 - (1/K)\ln(1 - Y_t/Y_\infty)$$

En la Tabla 2 se presentan los parámetros de este modelo.

### ***Relación talla fresca-talla descongelada***

Fueron medidos con precisión y marcados, poco después de la captura a bordo de buques cerqueros, 122 patudos. De éstos, 73 patudos, de entre 57 y 145 cm de talla, fueron medidos de nuevo con precisión después de ser descargados y descongelados en plantas enlatadoras. En la Figura 10 se ilustra la relación entre las tallas fresca y descongelada de los patudos muestreados. Se compararon los valores de las tallas frescas y descongeladas, usando una prueba de  $t$  de muestras emparejadas, y se descubrió que eran significativamente diferentes ( $P < 0,0001$ ). La contracción porcentual media de la talla fue de 1,95%.

Se expresó la relación talla fresca-talla descongelada de la forma:

$$L_f = 1,01814L_t + 0,1481 \quad (r^2 = 0,999, n = 73)$$

donde  $L_f$  = talla fresca (mm) del pez después de la captura, y  $L_t$  = talla descongelada (mm) del pez después de ser descongelado. La contracción porcentual predicha para un patudo de 60 cm y de 140 cm es 2,02% y 1,88%, respectivamente.

### ***Tasas de crecimiento estimadas a partir de datos de marcado***

Los coeficientes de regresión de la relación anterior fueron usados para predecir los valores de

talla fresca a partir de los valores reportados de talla descongelada de 205 patudos recapturados, para las estimaciones siguientes de las tasas de crecimiento.

En la Tabla 4 se resumen las tasas de crecimiento lineales de 205 patudos recapturados, en libertad 30 días o más, agrupadas por talla, tiempo en libertad, y sexo. El tamaño de la muestra en la mayoría de los intervalos de talla y tiempo, incluyendo aquéllas de hembras y machos, son insuficientes para comparaciones estadísticas de las tasas de crecimiento. Las tasas de crecimiento son variables entre agrupaciones, pero en el caso de aquéllas con tamaños de muestra de 20 individuos o más en libertad más de 90 días, el rango es de 2,71 a 3,09 cm/mes.

Para obtener estimaciones de  $K$  y  $L_{\infty}$  del modelo de crecimiento de von Bertalanffy, se ajustó la siguiente ecuación de Chapman (1960) a los datos de marcado, usando un procedimiento de regresión no lineal:

$$L_2 = L_1 + (L_{\infty} - L_1) (1 - e^{-K\Delta})$$

donde  $L_1$  = talla de marcado,  $L_2$  = talla de recaptura, y  $\Delta$  = días en libertad. Se construyó  $L_{\infty}$  a un máximo de 400 cm, el valor del parámetro derivado del modelo de von Bertalanffy ajustado a los datos de edad a talla (Tabla 2). Los parámetros  $K$  y  $L_{\infty}$  de este modelo fueron estimados en 0,120 (sobre una base anual) y 367,7, respectivamente.

Para ilustrar la variabilidad en crecimiento en los datos de marcado, y también el ajuste de la tasa de crecimiento estimada a esos datos, el promedio estimado de las tallas entre la liberación y recaptura, para cada pez en el conjunto de datos, fue estimado, usando el procedimiento de Bayliff (1988), y graficado (Figura 11). El modelo de crecimiento parece brindar un ajuste razonable a la distribución de las tallas medias estimadas de los datos de recaptura de marcas.

La tasa de crecimiento estimada a partir de los datos de edad a talla (Figura 9B) es superpuesta en la Figura 11 para comparar las tasas de crecimiento. Aunque las tasas de crecimiento derivadas de los dos conjuntos de datos independientes no son idénticas, son muy similares. Las tasas de crecimiento estimadas a partir de los datos de edad a talla para patudos de 50 cm y de 150 cm son solamente 0,35 cm/año menos, y 0,87 cm/año más, respectivamente que aquéllas estimadas a partir de los datos de marcado. Estos resultados brindan más evidencia que las técnicas de determinación de edad usadas en el presente estudio no subestiman la edad de los peces. Las tasas de crecimiento derivadas de los datos de edad a talla y datos de marcado abarcan un rango de tallas de 30,4 a 172,4 cm.

En la Figura 12 se grafican las edades estimadas correspondientes a tallas de recaptura derivadas de la edad estimada de la talla de liberación, de la relación edad-talla de los otolitos, y añadiendo tiempo en libertad. En la Figura 12 están superpuestas las estimaciones de edad a talla de los conteos de incrementos de otolitos, junto con la relación derivada de los parámetros del modelo de von Bertalanffy. Es aparente que la relación de von Bertalanffy se ajusta a ambos conjuntos de datos extremadamente bien, y brinda una comparación alternativa de las tasas de crecimiento derivadas de estas dos fuentes de datos.

## DISCUSIÓN

Las secciones frontales, a lo largo del primordio al eje postrostral, de los otolitos sagitales parecen brindar la mejor oportunidad para resolver los incrementos diarios hasta una edad máxima todavía por determinar (Secor *et al.*, 1991). La periodicidad diaria de la tasa de deposición de los incrementos en los otolitos, sugerida por Panella (1971, 1974), ha sido validada para muchas especies de peces marinos (Campana y Nielsen, 1985), incluyendo los atunes aleta amarilla, *Thunnus albacares* (Wild y Foreman, 1980; Wild *et al.*, 1995), albacora, *Thunnus alalunga* (Lours *et al.*, 1985), y aleta azul del Pacífico, *Thunnus orientalis* (Foreman, 1996), en varios rangos de talla. En el caso del patudo del Pacífico oriental y central, el experimento de marcado con

OTC en el presente estudio indica que, durante el crecimiento en talla de 38 a 135 cm, se forman incrementos en los otolitos sagitales a intervalos diarios. La validación de esta tasa de deposición de incrementos se basa específicamente en conteos de los incrementos a lo largo del primordio al eje postrostral de secciones frontales para períodos de crecimiento de hasta 551 días.

En la evaluación de Wild y Foreman (1980) de las relaciones entre los incrementos en los otolitos y el tiempo en atunes aleta amarilla y barrilete (*Katsuwonus pelamis*) marcados con OTC, se determinó que contar los incrementos en una ruta desde la marca fluorescente al borde ventral resultó en conteos significativamente menores que contarlos en la ruta a la punta postrostral en los mismos otolitos. Farley *et al.* (2003) reportaron asimismo que todos los conteos de incrementos en secciones transversales de los otolitos sagitales del patudo, marcados con cloruro de estroncio, subestimaron los días en libertad.

Se supuso en el presente estudio que los incrementos diarios son asimismo depositados en los otolitos de patudos en el intervalo de crecimiento anterior al rango validado, o sea, 0-38 cm. Aunque no ha sido validada la tasa de deposición de incrementos en el patudo en este intervalo de talla, se ha establecido que los incrementos son depositados a diario en los otolitos durante el crecimiento temprano de otros atunes, incluyendo el aleta azul del Atlántico (*Thunnus thynnus*) (Brothers *et al.*, 1983), barrilete (Radtke, 1983; Tanabe *et al.*, 2003), barrilete negro (*Euthynnus lineatus*) (Wexler, 1993), aleta azul del Pacífico (Itoh *et al.*, 2000) y aleta amarilla (Wexler *et al.*, 2001).

El poder de resolución del SID utilizado en el presente estudio es al menos  $0,3 \mu$  (Eastman Kodak, 1980). Lehodey *et al.*, (1999), Farley *et al.* (2003), y Stequert y Conand (2004) sugirieron que el ancho de los incrementos en los otolitos se acercan al límite de la resolución de un microscopio óptico en los patudos de más de unos tres años de edad o 120 cm de talla. Esto resulta aparentemente de la metodología en esos estudios de utilizar secciones transversales, que brindan una ruta de conteo más comprimida e incrementos teóricamente más estrechos cerca del borde. Sin embargo, es aparente del presente estudio que las secciones frontales de los otolitos brindan una mejor ruta de conteo porque son más largas, y por lo tanto los incrementos son más anchos, lo cual posibilita determinar la edad de peces de hasta al menos cuatro años de edad. El ancho medio de los últimos 50 incrementos de los 20 patudos de mayor edad en el presente estudio es  $2,51 \mu$  (rango:  $1,59$  a  $3,74 \mu$ ), mucho más que el límite de la resolución óptica. Además, la sugerencia de Stequert y Conand (2004) que es necesario un microscopio electrónico de barrida (MEB) para contar los incrementos diarios de patudos de más de 120 cm de talla no parece apropiada, a partir de los resultados del presente estudio. Otras investigaciones en las que se evaluó el ancho de los incrementos en los otolitos sagitales para determinar la edad máxima potencial que se puede determinar con precisión con microscopio de luz señalaron unos 5 años en el caso del aleta amarilla (Wild, 1986) y 4 años en el caso del aleta azul del Pacífico (Foreman, 1996).

Se ajustaron las ecuaciones de Richards, Gompertz, von Bertalanffy, y lineal sencilla a los datos de talla a edad, obtenidos de los conteos de incrementos de otolitos, a fin de seleccionar un modelo apropiado de forma sistemática (Ricker, 1979; Schnute, 1981; Chen *et al.*, 1992). Se seleccionó el modelo de von Bertalanffy, ya que brindó el mejor ajuste a los datos de talla a edad. No se debe considerar que los parámetros  $K$  y  $L_{\infty}$  del modelo de von Bertalanffy (Tabla 2) tengan significado biológico, porque la distribución de estos datos hasta la edad de aproximadamente 4 años es casi lineal (Figura 8). La varianza relativamente baja de la talla a edad de los peces de más de 3,5 años de edad ( $n = 21$ ) es tan sólo ligeramente mayor que aquella de los peces de menos de 1 año de edad ( $n = 64$ ), pero creemos que esto resulta del tamaño relativamente pequeño de la muestra de peces de más de 3,5 años de edad.

En la Figura 13 se compara la curva de crecimiento de von Bertalanffy obtenida en el



presente estudio de datos de talla a edad basados en conteos de incrementos en los otolitos, con estudios previos del Pacífico en los que se estimó la edad del patudo a partir de partes duras. Otros estudios en el Pacífico de la edad y crecimiento del patudo han usado escamas (Nose *et al.*, 1957; Yukinawa y Yabuta, 1963), otolitos (Farley *et al.*, 2003), y espinas dorsales (Sun *et al.*, 2001) para obtener estimaciones anuales de la edad y otolitos (Lehodey *et al.*, 1999) para obtener estimaciones diarias de la edad. Estos estudios previos no incluyeron validaciones de las técnicas usadas para determinar la edad de los especímenes, y es por lo tanto imposible determinar la fiabilidad de esas estimaciones. Por contraste, en el presente estudio ha sido validada la periodicidad diaria de la deposición de incrementos en las secciones frontales de los otolitos sagitales en la mayor parte del rango para el cual se determinaron estimaciones de edad. La curva de crecimiento de Lehodey *et al.* (1999), basada en conteos de incrementos en otolitos de secciones transversales, produjo tallas a edades de 1 y 2 años similares a aquéllas del presente estudio. Todas las demás curvas de crecimiento parecen sobreestimar significativamente la talla a edad 1. Farley *et al.* (2003) reportaron que sus estimaciones de edad sobreestiman la talla a edad para las edades de 1 a 3 años. Las tallas estimadas para las edades de más de 3 años en los estudios de Lehodey *et al.* (1999), Sun *et al.* (2001), y Farley *et al.* (2003), son significativamente menores que aquéllas del presente estudio. Creemos que estas diferencias resultan de un sesgo inherente en la estimación anual de la edad en los estudios de Sun *et al.* (2001) y Farley *et al.* (2003), pero podrían resultar de diferencias inherentes entre peces de diferentes regiones. En el estudio de Lehodey *et al.* (1999), la diferencia es probablemente la influencia de los datos de marcado, en el modelo compuesto, para el cual se incluyeron solamente las edades estimadas de patudos de hasta unos 120 cm o 3 años de edad.

Las diferencias entre las tallas a edad 1 estimadas en el presente estudio y aquéllas de Lehodey *et al.* (1999) podrían ser resultado de una variación geográfica en las poblaciones, ya que parece ocurrir poco intercambio de patudo entre el OPO y el Océano Pacífico central y occidental (Hampton y Gunn, 1998; Hampton *et al.*, 1998; Itano y Holland, 2000; Schaefer y Fuller, 2002; Schaefer y Fuller, 2005a; Hampton y Williams, 2005), pero es posible que resulten de una subestimación de la edad por los conteos en secciones transversales (Farley *et al.*, 2003).

Los parámetros de crecimiento obtenidos en el presente estudio del ajuste del modelo de von Bertalanffy a los datos de talla a edad parecen ser los más apropiados para peces de hasta unos 150 cm de talla para usar en las evaluaciones de la población de patudo en el OPO. Aunque la combinación de datos de marcado con datos de talla a edad en un modelo compuesto de crecimiento (Kirkwood, 1983; Eveson *et al.*, 2004), aplicado por Lehodey *et al.* (1999), parece ser una aplicación útil para extender el rango de tallas del crecimiento estimado, se dispone de un número insuficiente de recapturas de peces de más de 150 cm de talla ( $n = 3$ ).

Los métodos apropiados para extender el rango de tallas para los que se dispone de estimaciones de crecimiento incluyen la estimación de la edad de patudo de más de 150 cm de talla a partir de conteos de incrementos en los otolitos, después de validar la periodicidad de los incrementos para esas tallas. Otras técnicas por considerar para la estimación de la edad y crecimiento del patudo de más de 150 cm podrían incluir la validación de marcas anuales en las vértebras caudales, demostrada en el caso del aleta azul del Pacífico (Foreman, 1996). Otros estudios de este tipo del aleta azul del Atlántico (Lee *et al.*, 1983; Prince *et al.*, 1985), albacora (Labelle *et al.*, 1993), y patudo (Alves *et al.*, 2002) han indicado la presencia de marcas temporales en las vértebras caudales que podrían ser de periodicidad anual, con base en comparaciones de los resultados con otros estudios que estiman el crecimiento de esas especies.

El subconjunto de datos de marcado seleccionado para el presente estudio para estimar la tasa de crecimiento del patudo consiste en las tallas iniciales de liberación de peces vivos en el

momento de marcarlos, medidas al centímetro más cercano, usando cunas calibradas (Bayliff y Holland, 1986). Las tallas de los peces recapturados fueron también medidas con precisión por el personal de oficinas regionales de la CIAT con un calibre calibrado, pero hay un error por encogimiento introducido por la muerte, congelación y descongelación del pescado (Halliday y Roscoe, 1969; Treasurer, 1990; Morison *et al.*, 2003; Morison, 2004) a bordo de los buques pesqueros y después de descargar los buques, antes de obtener las tallas de recaptura. La contracción media de 1,95% de la talla del patudo en el presente estudio es comparable a la contracción de aproximadamente 1-2% reportada de una muestra de aleta amarilla de entre 60 cm y 147 cm de talla descargada de un buque de cerco (Anónimo, 1974, p. 95). La diferencia en las tasas de crecimiento estimadas (Figura 11) derivadas de los datos de talla a edad y los datos de marcado fue significativamente menor después de un ajuste por encogimiento de las tallas de los patudos recapturados. Las tasas de crecimiento estimadas a partir de los datos de marcado, con las tallas de recaptura ajustadas por encogimiento, fueron 4,52 cm/año y 2,12 cm/año mayores para un patudo de 50 cm y 150 cm, respectivamente, que aquéllas estimadas de los datos de marcado no ajustados. Se deberían hacer ajustes de las tallas de recaptura de estudios de marcado para tomar en cuenta el encogimiento causado por la muerte y la conservación, a fin de eliminar este error sistemático.

Aunque las tallas de patudo a edades 1 y 4 (56 y 151 cm, respectivamente) del presente estudio son similares a aquéllas del aleta amarilla (49 y 156 cm, respectivamente) (Wild, 1986), la talla y edad de 50% de madurez de patudo (135 cm y 3,4 años) (Schaefer *et al.*, 2005) son considerablemente mayores que aquéllas del aleta amarilla (92 cm y 2,1 años) (Schaefer, 1998; Schaefer, 2001). La vida aparente del patudo, basada en una edad máxima estimada de al menos 15 años (Farley *et al.*, 2003) y la edad estimada de la recaptura de mayor duración de 13,83 años (John Hampton, com. pers.), es de al menos 15 años. La vida aparente del aleta amarilla, basada en una edad máxima estimada de al menos 8 años (Alex Wild, com. pers.) y la edad estimada de la recaptura de mayor duración de 8 años, en la base de datos de marcado del Programa de Pesca Oceánica de la Secretaría de la Comunidad del Pacífico (John Hampton, com. pers.), es de al menos 8 años.

## RECONOCIMIENTOS

Agradecemos a Robin Allen, Director de la CIAT, y Richard Deriso, Jefe del Programa Atún-Picudo de la CIAT, su apoyo de esta investigación. Agradecemos a Eric Largacha, Kruger Loor, y Carlos de la A. Florencia, y a William Paladines, Aldo Basantes, y Félix Cruz, de las oficinas de la CIAT en Ecuador en Manta y Las Playas, respectivamente, que llevaron a cabo el muestreo del patudo y obtuvieron la información de recuperación de marcas usada en la investigación. La cooperación de los gerentes y empleados de las plantas enlatadoras, que permitieron el muestreo del pescado, es asimismo muy apreciada. El experimento de marcado con tetraciclina en aguas de Hawai fue realizado en colaboración con Kim Holland y David Itano, a través del Programa de Investigación de Pesquerías Pelágicas, JIMAR, Universidad de Hawai. Agradecemos a Patrick Tomlinson por compartir sus percepciones y su asesoramiento sobre el ajuste y la interpretación de los modelos de crecimiento. Deseamos agradecer también a Robin Allen, William Bayliff, Richard Deriso, John Hampton, Patrick Tomlinson, Jeanne Wexler, y un revisor anónimo, sus comentarios constructivos sobre los borradores del manuscrito.

## LITERATURE CITED—BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alves, A., P. (de) Barros, and M.R. Pinho. 2002. Age and growth studies of bigeye tuna *Thunnus obesus* from Madeira using vertebrae. *Fisheries Research*, 54(3): 389-393.
- Anonymous. 1974. Annual Report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 1973: 150 pp.
- Anonymous. 2004. Annual Report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 2002: 149 pp.
- Bayliff, W.H. 1988. Growth of skipjack, *Katsuwonus pelamis*, and yellowfin, *Thunnus albacares*, tunas in the eastern Pacific Ocean, as estimated from tagging data. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 19(4): 311-385.
- Bayliff, W.H. and K.N. Holland. 1986. Materials and methods for tagging tunas and billfishes, recovering the tags, and handling the recapture data. *FAO, Fish. Tech. Pap.*, 279: 36 pp.
- Beamish, R.J. and G.S. McFarlane. 1983. The forgotten requirement for age validation in fisheries biology. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112(6): 735-743.
- von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. *Hum. Biol.*, 10(2): 181-213.
- Brothers, E.B., E.D. Prince, and D.W. Lee. 1983. Age and growth of young-of-the-year bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from otolith microstructure. *U.S. Nat. Oceanic Atmos. Adm., Tech. Rep. Nat. Mar. Fish. Serv., Circ.*, 8: 49-59.
- Brown, C. 2005. An overview of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*) growth studies and implications for age-structured stock assessment. *Inter. Comm. Conser. Atlan. Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap.*, 57(2): 94-114.
- Campana, S.E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Jour. Fish. Biol.*, 59(2): 197-242.
- Campana, S.E. and J.D. Nielson. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci.*, 42(5): 1014-1032.
- Chapman, D.G. 1960. Statistical problems in dynamics of exploited fisheries populations. *Proceed. Fourth Berkeley Symposium on Math. Stat. and Prob.*, Univ. Calif. Press, Berkeley: 153-168.
- Chen, Y., D.A. Jackson, and H.H. Harvey. 1992. A comparison of von Bertalanffy and polynomial functions in modeling fish growth data. *Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci.*, 49(6): 1228-1235.
- Chilton, D.E. and R.J. Beamish. 1982. Age determination methods for fishes studied by the Groundfish Program at the Pacific Biological Station. *Canad. Spec., Publ. Fish. Aquat. Sci.* 60: 102 pp.
- Clear, N.P., J.S. Gunn, and A.J. Rees. 2000. Direct validation of annual increments in the otoliths of juvenile southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*, through a large-scale mark-and-recapture experiment using strontium chloride. *U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Fish. Bull.*, 98(1): 25-40.
- Collette, B.B. and C.E. Nauen. 1983. *FAO species catalogue. Vol. 2. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date.* *FAO Fish. Synop.* 125, Vol. 2: 137 pp.
- Collette, B.B., C. Reeb, and B.A. Block. 2001. Systematics of the tunas and mackerels (Scombridae). *In* Block, B.A. and E.D. Stevens (eds.), *Tuna: Physiology, Ecology and Evolution*, *Fish Physiology*, Vol. 19, Academic Press. San Diego: 1-33.
- Diagnostic Instruments. 2002. Spot RT Monochrome Digital Camera, Model 2.1.1. <http://www.diaginc.com>.
- Eastman Kodak Co. 1980. *Photography through the microscope.* Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y.: 96 pp.
- Eveson, J. P., G.M. Laslett, and T. Polacheck. 2004. An integrated model for growth incorporating tag-recapture, length-frequency, and direct aging data. *Canad. Jour. Fish. Aquatic Sci.*, 61(2): 292-306.

- Farley, J., N. Clear, B. Leroy, T. Davis, and G. McPherson. 2003. Age and growth of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) from the eastern and western AFZ. CSIRO Marine Research, Fisheries Research and Development Corporation, and Queensland Government, Department of Primary Industry, Report No. 2000/100: iv, 93 pp.
- Foreman, T. 1996. Estimates of age and growth, and an assessment of ageing techniques for northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Pacific Ocean. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull., 21(2): 75-123.
- Halliday, R.G. and B. Roscoe. 1969. The effects of icing and freezing on the length and weight of groundfish species. ICNAF Res. Doc., 69(2): 13 pp.
- Hallprint Pty Ltd. 2005. <http://www.hallprint.com>.
- Hampton, J., K. Bigelow, and M. Labelle. 1998. A summary of current information on the biology, fisheries and stock assessment of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the Pacific Ocean, with recommendations for data requirements and future research. Secretariat of the Pacific Community, Ocean. Fish. Prog., Tech. Rept., 36: 46 pp.
- Hampton, J. and J. Gunn. 1998. Exploitation and movements of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*T. obesus*) tagged in the north-western Coral Sea. Mar. Freshwater Res., 49(6): 475-489.
- Hampton, J. and P. Williams. 2005. A description of tag-recapture data for bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the western and central Pacific Ocean. Inter. Comm. Conser. Atlan. Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap., 57(2): 85-93.
- Itano, D.G. and K.N. Holland. 2000. Movement and vulnerability of bigeye (*Thunnus obesus*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in relation to FADs and natural aggregation points. Aquat. Living Res., 13(4): 213-223.
- Itoh, T., Y. Shina, S. Tsuji, F. Endo, and N. Tezuka. 2000. Otolith daily increment formation in laboratory reared larval and juvenile bluefin tuna *Thunnus thynnus*. Fish. Sci., 66(5): 834-839.
- Iversen, E.S. 1955. Size frequencies and growth of central and western Pacific bigeye tuna. U.S. Fish Wildl. Serv., Spec. Sci. Rep. Fish., 162: 40 pp.
- Kato, K. 2001. Preliminary analysis of otolith increment of bigeye (*Thunnus obesus*) caught in the eastern Pacific Ocean. Bull. Kanagawa Prefectural Fish. Res. Instit., 6: 67-70.
- Kirkwood, G.P. 1983. Estimation of von Bertalanffy growth curve parameters using both length increment and age-length data. Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci., 40(9): 1405-1411.
- Kume, S. and J. Joseph. 1966. Size composition, growth and sexual maturity of bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe), from the Japanese long-line fishery in the eastern Pacific Ocean. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull., 11(2): 45-99.
- Labelle, M., J. Hampton, K. Bailey, T. Murray, D.A. Fournier, and J.R. Sibert. 1993. Determination of age and growth of South Pacific albacore (*Thunnus alalunga*) using three methodologies. U.S. Nat. Mar. Fish. Ser., Fish. Bull., 91(4): 649-663.
- Laurs, R.M., R. Nishimoto, and J.A. Wetherall. 1985. Frequency of increment formation on sagittae of north Pacific albacore (*Thunnus alalunga*). Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci., 42(9): 1552-1555.
- Lee, D.W., E.D. Prince, and M.E. Crow. 1983. Interpretation of growth bands on vertebrae and otoliths of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS, 8: 61-99.
- Lehodey, P., J. Hampton, and B. Leroy. 1999. Preliminary results on age and growth of bigeye (*Thunnus obesus*) from the western and central Pacific Ocean as indicated by daily growth increments and tagging data. Working paper BET-2 presented at the twelfth meeting of the Standing Committee on Tuna and Billfish (SCTB), 16-23 June 1999, Tahiti, Secretariat of the Pacific Community, Noumea: 17 pp. [www.spc.int/OceanFish/html/SCTB/STCB12/WP/SCTB99\\_WPBET-2.pdf](http://www.spc.int/OceanFish/html/SCTB/STCB12/WP/SCTB99_WPBET-2.pdf).

- Maunder, M.N. and S.D. Hoyle. 2006. Status of bigeye tuna in the eastern Pacific Ocean in 2004 and outlook for 2005. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Stock Assess. Rept., 6: 103-206.
- Matsumoto, T. 1998. Preliminary analysis of age and growth of bigeye (*Thunnus obesus*) in the western Pacific Ocean, based on otolith increments. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Spec. Rept., 9: 238-242.
- Media Cybernetics. 2002. Image-Pro Plus, software version 4.5.0.19 <http://www.mediacy.com>.
- Miyabe, N. and W.H. Bayliff. 1998. A review of information on the biology, fisheries, and stock assessment of bigeye tuna, *Thunnus obesus*, in the Pacific Ocean. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Spec. Rept., 9: 129-170.
- Morales-Nin, B. 1992. Determination of growth in bony fishes from otolith microstructure. FAO, Fish. Tech. Pap., 322: 51 pp.
- Morison, A.K. 2004. Is rigor mortis the cause of post-mortem shrinkage in juvenile *Pagrus auratus*? Jour. Fish. Biol., 65(3): 883-888.
- Morison, A.K., I.W. Brown, and G.K. Jones. 2003. Post mortem shrinkage of four species of temperate and tropical marine fishes, without freezing or preservation. Jour. Fish. Biol., 62(6): 1435-1449.
- Nose, Y., H. Kawatsu, and Y. Hiyama. 1957. Age and growth of Pacific tunas by scale reading. In Collection of Works on Fisheries Science, Jubilee Publication of Professor I. Amemiya, Univ. Tokyo Press: 701-716.
- Panella, G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. Science (Wash. D.C.), 173(4002): 1124-1127.
- Panella, G. 1974. Otolith growth patterns: an aid in age determination in temperate and tropical fishes. In T.B. Bagenal (ed.). The ageing of fish. Proc. Internat. Symp. On the Ageing of Fish, Univ. Reading; Unwin Bros., Ltd. Surrey, Engl: 28-29.
- Prince, E.D., D.W. Lee, and J.C. Javech. 1985. Internal zonations in sections of vertebrae from Atlantic bluefin, *Thunnus thynnus*, and their potential use in age determinations. Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci., 42(5): 938-946.
- Radtke, R.L. 1983. Otolith formation and increment deposition in laboratory-reared skipjack tuna, *Euthynnus pelamis*, larvae. U.S. Nat. Oceanic Atmos. Adm., Tech. Rep. Nat. Mar. Fish. Serv. Circ., 8: 99-103.
- Richards, F.J. 1959. A flexible growth function for empirical use. Jour. Exp. Bot., 10(29): 290-300.
- Ricker, W.E. 1979. Growth rates and models. In W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (eds.) Bioenergetics and Growth. Fish Physiology, Academic Press, New York, Vol. 8: 677-743.
- Schaefer, K.M. 1998. Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull., 21(5): 201-272.
- Schaefer, K.M. 2001. Reproductive biology of tunas. In Block, B.A. and E.D. Stevens (eds.). Tuna: Physiology, Ecology and Evolution. Fish Physiology, Academic Press, San Diego, Vol. 19: 225-270.
- Schaefer, K.M. and D.W. Fuller. 2002. Movements, behavior, and habitat selection of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the eastern equatorial Pacific, ascertained through archival tags. U.S. Nat. Mar. Fish. Ser., Fish. Bull., 100(4): 765-788.
- Schaefer, K.M. and D.W. Fuller. 2005a. Conventional and archival tagging of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the eastern equatorial Pacific Ocean. Inter. Comm. Conser. Atlan. Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap., 57(2): 67-84.
- Schaefer, K.M. and D.W. Fuller. 2005b. Behavior of bigeye (*Thunnus obesus*) and skipjack (*Katsuwonus pelamis*) tunas within aggregations associated with floating objects in the equatorial eastern Pacific. Mar. Biol., 146(4): 781-792.

- Schaefer, K.M., D.W. Fuller, and N. Miyabe. 2005. Reproductive biology of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the eastern and central Pacific Ocean. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 23(1): 1-31.
- Schnute, J. 1981. A versatile growth model with statistically stable parameters. *Canad. Jour. Fish. Aquat. Sci.*, 38(9): 1128-1140.
- Seber, G.A.F. and C.J. Wild. 1989. *Nonlinear Regression*. John Wiley and Sons, Inc.: 768 pp.
- Secor, D.H., J.M. Dean, and S.E. Campana. 1995. Fish otoliths: faithful biological and environmental chronometers? *In* Secor, D.H., J.M. Dean, and S.E. Campana (eds). *Recent Developments in Otolith Research*. University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina: 25-27.
- Secor, D.H., J.M. Dean, and E.H. Laban. 1991. *Manual for otolith removal and preparation for microstructural examination*. Electric Power Research Institute and the Belle W. Baruch Institute for Marine Biology and Coastal Research: 85 pp.
- Shomura, R.S. 1966. Age and growth studies of four species of tunas in the Pacific Ocean. *In* Manar, T.A. (ed.), *Hawaii, Governor's Conf. Cent. Pacif. Fish. Resources, Proc.*: 203-219.
- Shomura, R. S. and B.S. Keala. 1963. Growth and sexual dimorphism in the bigeye *Thunnus obesus*: a preliminary report. *FAO Fish. Rep.*, 6(3): 1409-1417.
- Stequert, B. and F. Conrad. 2004. Age and growth of bigeye (*Thunnus obesus*) in the western Indian Ocean. *Cybiurn*, 28(2): 163-170.
- Suda, A. and S. Kume. 1967. Survival and recruit of bigeye tuna in the Pacific Ocean, estimated by the data of tuna longline catch. *Rep. Nankai. Reg. Fish. Res. Lab.*, 25: 91-104.
- Sun, C.L., C.L. Huang, and S.Z. Yeh. 2001. Age and growth of the bigeye *Thunnus obesus* in the western Pacific Ocean. *U.S. Nat. Mar. Fish. Ser., Fish. Bull.*, 99(3): 502-509.
- Tanabe, T., S. Kayama, M. Ogura, and S. Tanaka. 2003. Daily increment formation in otoliths of juvenile skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. *Fish. Sci.*, 69(4): 731-737.
- Tankevich, P.B. 1982. Age and growth of bigeye *Thunnus obesus* (Scombridae) in the Indian Ocean. *Jour. Ichthyol.*, 22(4): 26-31.
- Treasurer, J.W. 1990. Length and weight changes in perch, *Perca fluviatilis* L., and pike, *Esox lucius* L., following freezing. *Jour. Fish. Biol.*, 37(3): 499-500.
- Weber, D. and G.J. Ridgway. 1967. Marking Pacific salmon with tetracycline antibiotics. *Jour. Fish. Res. Bd. Canada*, 24(4): 849-865.
- Wexler, J.B. 1993. Validation of daily growth increments and estimation of growth rates of larval and early-juvenile black skipjack, *Euthynnus lineatus*, using otoliths. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 20(7): 399-440.
- Wexler, J.B., D. Margulies, S. Masuma, N. Tezuka, K. Teruya, M. Oka, M. Kanematsu, and H. Nikaido. 2001. Age validation and growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae reared in the laboratory. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 22(1): 52-85.
- Wild, A. 1986. Growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean based on otolith increments. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 18(6): 421-482.
- Wild, A. and T.J. Foreman. 1980. The relationship between otolith increments and time for yellowfin and skipjack tuna marked with tetracycline. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull.*, 17(7): 507-560.
- Wild, A., J.B. Wexler, and T.J. Foreman. 1995. Extended studies of increment deposition rates in otoliths of yellowfin and skipjack tunas. *Bull. Mar. Sci.*, 57(2): 555-562.
- Yukinawa, M. and Y. Yabuta. 1963. Age and growth of bigeye *Parathunnus mebachi* (Kishinouye). *Rep. Nankai Reg. Fish. Res. Lab.*, 19: 103-118.
- Zar, J.H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.: 620 pp.

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

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

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

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

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

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

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

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

*Editor—Redactor*  
William H. Bayliff

Inter-American Tropical Tuna Commission  
Comisión Interamericana del Atún Tropical  
8604 La Jolla Shores Drive  
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.  
[www.iattc.org](http://www.iattc.org)