

INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISION INTERAMERICANA DEL ATUN TROPICAL

Bulletin — Boletín

Vol. VI, No. 6

**BLOOD LACTATE IN YELLOWFIN TUNA, *NEOTHUNNUS*
MACROPTERUS, AND SKIPJACK, *KATSUWONUS PELAMIS*,
FOLLOWING CAPTURE AND TAGGING**

**EL LACTATO EN LA SANGRE DEL ATUN ALETA AMARILLA,
NEOTHUNNUS MACROPTERUS, Y DEL BARRILETE,
KATSUWONUS PELAMIS, DESPUES DE LA CAPTURA
Y DE LA MARCACION**

by — por

IZADORE BARRETT

and — y

ANNE ROBERTSON CONNOR

La Jolla, California

1962

CONTENTS — INDICE
ENGLISH VERSION — VERSION EN INGLES

	Page
INTRODUCTION.....	233
ACKNOWLEDGEMENTS.....	234
MATERIALS AND METHODS.....	234
RESULTS.....	237
Rack samples.....	237
Live-box samples.....	238
Yellowfin Tuna.....	238
Skipjack Tuna.....	239
Comparison between yellowfin and skipjack tuna.....	240
Fish chased to exhaustion.....	241
Blood hemoglobin.....	241
Mortalities in the live-box, and some general observations.....	241
DISCUSSION.....	242
Comparison between tunas and other fishes.....	242
Comparison between yellowfin and skipjack tunas.....	243
Relation of these results to tagging operations.....	244
FIGURES—FIGURAS.....	246
TABLES—TABLAS.....	249

SPANISH VERSION — VERSION EN ESPAÑOL

	Página
INTRODUCCION.....	262
RECONOCIMIENTO.....	263
MATERIAL Y METODOS.....	263
RESULTADOS.....	267
Muestras de la barandilla.....	267
Muestras del vivero.....	268
Atunes aleta amarilla.....	268
Barriletes.....	269
Comparación entre los atunes aleta amarilla y los barriletes.....	270
Peces perseguidos hasta el agotamiento.....	271
Hemoglobina en la sangre.....	271
Mortalidad en el vivero y algunas observaciones generales.....	272
DISCUSION.....	272
Comparación entre los atunes y otros peces.....	272
Comparación entre los atunes aleta amarilla y los barriletes.....	274
Relación de los anteriores resultados con las operaciones de marcación.....	275
LITERATURE CITED—BIBLIOGRAFIA CITADA.....	277

**BLOOD LACTATE IN YELLOWFIN TUNA, *NEOTHUNNUS
MACROPTERUS*, AND SKIPJACK, *KATSUWONUS PELAMIS*,
FOLLOWING CAPTURE AND TAGGING^{1, 2}**

by

Izadore Barrett and Anne Robertson Connor³

INTRODUCTION

The staff of the Inter-American Tropical Tuna Commission for several years has been investigating the life history, population structure, behavior and ecology of the yellowfin tuna, *Neothunnus macropterus*, and the skipjack, *Katsuwonus pelamis*, in the Eastern Tropical Pacific Ocean. The tagging and subsequent recovery of these tropical tunas, to provide information on population structure, migrations, mortality rates and growth rates, are important aspects of these investigations. Broadhead (1959) and Schaefer, Chatwin and Broadhead (1961) emphasize the many difficulties involved in tagging these extremely active yet delicate fish and give considerable evidence to suggest that tagging mortality is high, perhaps as great as 60 to 80 per cent. The latter authors suggest that the rather high mortality at tagging is related to the effects of hyperactivity brought about by the tagging operation.

That struggling in fishes may lead to death was first appreciated by von Buddenbrock (1938). He noted that blood in the gills of fish struggling in a live-box was dark in color (poorly oxygenated), and that subsequent death was accompanied by high blood lactate levels presumably originating from the breakdown of glycogen in muscle as a result of activity. The appearance of high blood lactate following exercise has been confirmed in various species of both fresh-water and marine fish by Secundat and Díaz (1942), Black (1955, 1957a, b, c.), Black *et al.* (1959 and 1960), Nakatani (1957), Miller, Sinclair and Hochachka (1959) and others. Increased levels of lactate have also been reported following other types of stimulation such as handling and live transportation (Black, 1956; Black and Barrett, 1957), transportation and planting of hatchery-reared trout (Miller, 1958), and exposure to air (Leivestad, Andersen and Scholander, 1957). The relationship of increased blood lactate during and following captivity to increase in muscle lactate and depletion of muscle glycogen stores has been demonstrated and fully discussed by Black *et al.* (1960, 1961, and 1962). Mortalities in certain species of fish have been recorded

1—Contribution from Inter-American Tropical Tuna Commission and Department of Physiology, University of British Columbia, Vancouver, Canada.

2—This study was supported in part by a grant-in-aid from the National Research Council of Canada.

3—Research Assistant, Department of Physiology, University of British Columbia.

following severe exercise (Secondat and Díaz, 1942; Black, 1957c; Bates and Vinsonhaler, 1957); following capture by trolling or gill net (Huntsman, 1938; Parker and Black, 1959; Parker, Black and Larkin, 1959); and following tagging operations (Parker and Kirkness, 1956; Milne and Ball, 1956 and 1958). Some of these authors have provided evidence for a correlation between very high blood lactate and mortality (Secondat and Díaz, 1952; Black, 1957c; Parker and Black, 1959; Parker, Black and Larkin, 1959).

The present study, the first in a series on muscular fatigue in tunas, was designed to investigate the possibility that the high mortality rates and quite variable percentage returns of tagged tunas might be due to the several effects of an increase in the blood lactate occasioned by the tagging operation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Captain A. Castagnola, Chief Engineer T. Silvero, and the crew of the tuna clipper *Barbara K.* for their invaluable aid. John E. Kinnear of the Commission staff helped with the experiments aboard the vessel. The analytical work which was carried out by the authors in the Department of Physiology at the University of British Columbia, Vancouver, Canada, was supported in part by a grant-in-aid (T-7) from the National Research Council of Canada to Dr. Edgar C. Black. It is a special pleasure to acknowledge the support, aid and suggestions given by Dr. Black.

MATERIALS AND METHODS

During March and April 1961, the Tuna Commission chartered the commercial tuna clipper, *Barbara K.*, to tag and release tunas in the waters off the Pacific coast of Central America; it was aboard this vessel that these experiments were conducted. The fish were captured by live-bait methods (Godsil, 1938) and tagged with dart tags (Broadhead, 1959). The yellowfin tunas used in the experiments ranged in weight from approximately five to eight pounds; the skipjack, from four to seven pounds. These represent fish of manageable size, rather than a random sampling of the fish captured in the fishery.

Blood samples were taken from untagged and tagged fish of both species immediately after capture (rack samples), and after holding in a live-box for various intervals of time up to 24 hours after capture (live-box samples). Blood samples were also taken from untagged fish chased to exhaustion in the live-box.

The untagged fish used for rack samples were swung to a V-shaped tagging cradle, lined with foam rubber, held in a water-filled wooden trough mounted on the bulwark railing beside the fisherman. A fish was placed in an inverted position, the barbless hook removed and the blood sample taken by cardiac puncture as described by Black (1955). The fish was then killed and the total length was recorded, as with all fish from which blood samples were taken. The average time from hooking to withdrawal of the syringe was 40.8 ± 7.8 seconds¹ (range, 20 to 130 seconds) for 14 yellowfin and 41.3 ± 3.2 seconds (range, 30 to 55 seconds) for six skipjack.

The tagged fish used for the rack samples were swung, on capture, to a tagging cradle where the hook was removed and the fish routinely tagged. Then, instead of returning the fish to the sea, it was transferred to the adjacent water-filled tagging cradle where the blood sample was taken. The average time from hooking through tagging to the removal of the syringe was 45.1 ± 6.4 seconds (range, 23 to 135 seconds) for 17 yellowfin tuna and 38.5 ± 5.2 seconds (range, 20 to 90 seconds) for 11 skipjack.

The live-box in which the fish were held following capture and tagging was a standard one used to hold live bait aboard the vessel. It was modified by lining the four sides with one-inch thick polyurethane foam glued onto plywood sheets which were wired to the refrigerator coils in the box, and by placing baffles across the corners to give the box an octagonal shape. The foam lining was used in an attempt to prevent the fish from damaging themselves on the sides of the box. This precaution proved to be unnecessary, and indeed hazardous for the fish, since fish died when they became trapped behind the foam-covered panels, which at times loosened away from the walls of the box. The foam lining will not be used in future experiments. The box was 2.7 m. wide, 4.2 m. long and 1.6 m. deep, and held some 18,000 liters of sea water. The water rose 18 cm. into a coaming (106 cm. square) at the top center of the box. This effectively prevented surging of the water. The flow of sea water, which entered diffusely along the forward bottom corner, through the box was approximately 3,900 liters per minute. Water temperature in the live-box during the experiments ranged from 26.1°C to 28.9°C (79° - 84°F) and was always the same as the surrounding sea temperature.

For the live-box samples, the fish were captured and swung on the hook and line from the water to the bait-box deck, a distance of some 15 feet. The untagged fish were lowered directly into the water in the box and shaken off the barbless hook. This operation, from the time of hooking to the time of release in the box, took an average of 8.0 ± 0.3 seconds (range, 6-16 seconds) for 61 yellowfin tuna and 7.1 ± 0.2 seconds (range,

¹—All deviations given in this paper represent the standard error.

6-9 seconds) for 35 skipjack. Tagged fish to be held in the box were swung into a standard tagging cradle on the bait-box deck, and held there in air while the hook was removed and the dart tag inserted, after which the fish were released into the live-box. This took, from hooking to release in the box, an average of 15.6 ± 0.5 seconds (range, 12-21 seconds) for 60 yellowfin tuna and 14.4 ± 0.2 seconds (range, 13-16 seconds) for 58 skipjack. After predetermined times of holding, the fish were removed with as little disturbance as possible to the other fish being held. Removal was accomplished by the use of a crowder net, or occasionally, a dip net. Fish were transferred to the water-filled cradle where the blood sample was taken. Samples were taken only from living fish.

Four each of yellowfin and skipjack tunas were chased to exhaustion prior to blood sampling, by lowering the water in the live-box to $1\frac{1}{2}$ to 2 feet and then chasing and stirring up the fish until they lay exhausted on their sides. The blood samples were then taken in the usual manner.

When the fish were released into the box, they immediately began to swim in circles about its circumference, and continued to do so during the period of their confinement. During these experiments, there was no apparent difference between the behavior of the yellowfin and the skipjack in the box. The fish were not deliberately disturbed, except to remove them for sampling, or to remove fish which had died. The fish seemed to show no reaction to activities or people passing by on the bait deck. The tank was constantly lighted with both underwater and overhead lamps. The fish were not fed during their confinement. There was no great difficulty in holding the yellowfin tuna in the live-box for 24 hours after capture, which was the time limit set for the experiments. It was not possible, however, to keep the skipjack alive in the box for more than ten hours.

As many as thirty fish were held at one time in the live-box, although the usual content at the start of an experiment was about fifteen fish. At times, both species were held in the box simultaneously. It was not possible, of course, to record an exact time of entry into the box for individual untagged fish, but every effort was made to put an entire group of untagged fish into the box within as short a time period as possible. The maximum time was fifteen minutes. Times of holding given for the untagged fish, therefore, are only approximate. For the tagged fish, the tag number and the exact time of entry, in most cases, were noted. The results presented are based on a series of experiments and a number of different groups of fish.

Blood was taken by cardiac puncture with a heparinized 2 ml. Luer syringe lubricated with paraffin oil. The blood was expelled into a shell vial from which a 1 ml. sample was withdrawn and ejected into a 50 ml. Erlenmeyer flask containing 9.0 ml. of cold 10 per cent trichloroacetic acid.

The mixture was filtered within fifteen minutes and the filtrate was frozen in a one-ounce polyethylene bottle. The filtrates from the yellowfin blood samples had a typical pale straw color, while those of the skipjack were an unusual pale green. This latter color, however, caused no apparent interference with the analytical procedures. The samples were kept frozen until analyzed for lactate content by the method of Barker and Summer-son (1941) in the Department of Physiology at U.B.C. Values of lactate were calculated as milligrams per 100 ml. of blood (mg.%) and are the average of duplicate, or more, analyses. The standard solution of 0.05 mg.% lactic acid gave an average corrected value (Klett colorimeter reading of standard less the reading for the reagent blank) of 144.2 ± 0.7 for 37 determinations, an indication of the precision of the method of analysis.

Determinations of hemoglobin content were made on some of the blood samples from fish held in the live-box, using blood remaining in the shell vial after the 1 ml. portion had been taken for lactate analyses. The determinations were made by the acid-hematin method using the Sahli-Hellige hemoglobinometer. Values are expressed as grams per 100 ml. of blood. Although this technique has recently been shown to give high and variable hemoglobin values for fish blood (Anthony, 1961), the hemoglobin content of the bloods of the two species was sufficiently different (see below) to permit the use of these data to show relative levels.

A number of sources of error and limitations should be kept in mind. These include, among others:

1. the initial muscle-glycogen levels of the fish;
2. the variable amount of exercise and use of glycogen stores before capture;
3. the continual swimming of the tunas in the live-box (and any concomitant "confinement stress");
4. the variable amount of time to take the blood samples;
5. the re-stimulation of the fish remaining in the live-box during the removal of others for sampling; and
6. the error involved in the method of lactate determination.

RESULTS

Rack samples

The blood lactate levels at capture, and after capture and tagging are given, for yellowfin and skipjack tunas, in Tables 1 and 2 respectively. "t" tests were used to compare differences in blood lactate levels between untagged and tagged yellowfin, between untagged and tagged skipjack, and between yellowfin and skipjack. These tests showed no significant differences. The average blood lactate for these four groups ranged from

14.4 to 22.5 mg.% and have been considered, for this study, as the base levels of lactate in the blood stream. These values are slightly higher than lactate values recorded for other species before exercise (Black, Robertson and Parker, 1961, Table 8), which may be due either to the greater degree of activity between initial capture and sampling under field conditions, or to a higher level of activity in tunas in the steady state under natural conditions. Average lactate levels during recovery were, on occasion, lower than those of the rack samples (Tables 3, 4, 6 and 7). The lower lactate values noted after holding may be attributed to greatly reduced glycogen stores and/or to less activity in the live-box than in the ocean.

Live-box samples

Yellowfin tuna

The blood lactate levels and the times held in the live-box are given in Table 3 for 51 untagged and in Table 4 for 39 tagged yellowfin tuna. The relationship between the lactate level and the time held after capture and tagging was obviously non-linear. To facilitate analysis, the data were converted to logarithmic values. The regression of the lactic acid level (Y) on time held (X) in the form $\log Y = a + b \log X$ resulted in a transformation to approximately a linear relationship (Figure 1), between about $\frac{1}{2}$ hour and ten hours.

The individual values in Table 3 and Figure 1 show that a level of 90 mg.% lactate was present in the blood stream of the untagged yellowfin within 13 minutes. At 29 minutes, the level in one fish had reached a peak of some 200 mg.%, a nine-fold increase over the average base level, and the mean value was about 115 mg.%. From this peak, the lactate content of the blood dropped steadily, so that by $1\frac{1}{2}$ hours, the blood lactate values of some fish were within the range of the base values. After about $4\frac{1}{2}$ hours recovery, the blood lactate levels in four untagged yellowfin averaged 11.5 mg.%. Most fish remained at or below this level until the termination of the experiment at 24 hours. The occasional high values recorded after three hours are most likely due to some extra stimulation immediately before sampling, in view of extreme rapidity with which lactate appears in the blood (Black *et al.*, 1962).

The pattern for the tagged yellowfin was essentially similar to that for the untagged. Examination of individual values in Table 4 and Figure 1 shows that within 10 minutes of tagging the lactate level had increased to 116 mg.%. The lactate remained at about this level for $\frac{3}{4}$ of an hour, and then dropped steadily, so that by $1\frac{1}{2}$ to 2 hours recovery the values for some fish were within the range of the base values for tagged yellowfin. The lactate content continued to drop steadily, and by $4\frac{1}{2}$ hours the average level (18.4 mg.%) was only slightly higher than the average base level

for tagged yellowfin. After seven hours recovery, the average level (10.4 mg.%) was below the average base levels, and remained so for the duration of the experiment.

An analysis of covariance of the logarithms of the blood lactate levels against the logarithms of the times held in the box for values from 20 to 600 minutes was calculated for the untagged and the tagged yellowfin tuna. This period was selected (a) for ready comparison with the results of the skipjack experiments which were terminated after ten hours and (b) because the regression appears to be linear over this range. There were no significant differences between deviations from regression of the two groups, between the slopes of the lines (i.e. between the rates of disappearance of lactate from the blood) or between the levels of regression lines representing the mean value of blood lactate at various times (Table 5).

Skipjack tuna

The blood lactate levels and the times held in the live-box are given in Table 6 for 30 untagged and in Table 7 for 23 tagged skipjack. The data were treated as for the yellowfin. The relation between the logarithm of the lactate level against the logarithm of the time held is shown in Figure 2.

Examination of the individual values in Table 6 and Figure 2 shows that a level of 130 mg.% lactate was present in the blood of one untagged skipjack within ten minutes. After about $\frac{3}{4}$ of an hour, the level reached a peak value in one fish of 263 mg.%, an 18-fold increase over the average base level, and the mean value was about 160 mg.%. Thereafter the level dropped steadily until, at about ten hours of recovery when the experiment ended, the average blood lactate level was 31 mg.% for five fish. The blood lactate levels remained above the base levels throughout the experiment. The great variation in the blood lactate levels of individual skipjack at any one time was especially noteworthy.

From an examination of the individual values for the tagged skipjack in Table 7 and Figure 2, it appears that the blood level of lactate rose from the average base level of some 15 mg.% to 142 mg.% within ten minutes. The lactate content increased to a maximum of 498 mg.% in one fish at 39 minutes, a 33-fold increase, and an average value of about 325 mg.%, after which the levels dropped steadily. The great variability in the levels and the paucity of specimens at the longer holding periods permit only a suggestion that the levels at the end of ten hours recovery approximate those at first capture and tagging. The levels of 350 and 498 mg.% at 38 and 39 minutes, and of 154 and 169 mg.% at 115 and 120 minutes are high compared with the levels after the same period of recovery in the other

specimens, and may represent fish with a somewhat different response to the experimental procedure. These data, however, were included in the statistical analysis.

An analysis of covariance of the logarithms of the blood lactate levels against the logarithms of the times held in the box, for values from 20 to 600 minutes, was calculated for the untagged and the tagged skipjack tuna. There was no significant difference between the deviations from regression of the two groups. There was, however, a significant difference between the slopes (i.e. rates of disappearance of lactate from the blood stream) of the two groups (Table 5). The blood lactate reaches an initially higher level, decreases at a faster rate and, at ten hours, is at a lower level in the tagged skipjack than in the untagged. As shown below (p. 241), however, when the data of the four possibly aberrant fish mentioned above are removed, there is then no observable difference between the regressions for tagged and untagged fish.

Comparison between yellowfin and skipjack tunas

The various comparisons between the untagged and tagged yellowfin and skipjack tunas arising from analyses of covariance, are given in Table 5. The regression lines showing the relation between the lactate level and the time held for all yellowfin combined, for untagged skipjack, and for tagged skipjack are given in Figure 3. Correlation of the data from Tables 1, 2, and 5 and Figures 1, 2, and 3 makes possible some generalizations concerning the blood lactate levels in yellowfin and skipjack tunas. Since there was no statistical difference between the lactate levels of the untagged and tagged yellowfin, these data were combined for the following comparisons:

1. the blood lactate levels of yellowfin and skipjack tunas at capture, and immediately after capture and tagging, are not significantly different;
2. increases in blood lactate levels become apparent in both species of tuna within the first ten minutes of recovery, and reach their maxima in $\frac{1}{2}$ to $\frac{3}{4}$ or an hour. The increase is greater in skipjack than in yellowfin, and greater in tagged than in untagged skipjack;
3. for untagged skipjack, the rate of disappearance of lactate from the blood is slower than for yellowfin tuna;
4. for tagged skipjack, the rate of disappearance of lactate from the blood is faster than for yellowfin tuna; and
5. the variation in the blood lactate levels at any given time is greater in skipjack than in yellowfin tuna.

Parker and Black (1959) showed that the death of individual chinook

salmon in their experiments was significantly associated with high blood lactate levels. If it is assumed that the four tagged skipjack with the high blood lactate levels (noted above) would have died in the live-box had they not been sampled, these can be speculatively omitted from the calculation of the analysis of covariance. There is then no significant difference between the deviations from regression, the rates of disappearance of lactate (slopes) or the elevations of the two regression lines for skipjack (Table 5).

Fish chased to exhaustion

The time of chasing until the fish lay exhausted, and the blood lactate of each of four yellowfin and four skipjack tunas at the time of exhaustion are given in Table 8. There was an increase, with time, in the blood lactate level at exhaustion in both species with the exception of the yellowfin at 11 minutes. The blood lactate values were again higher in skipjack than in yellowfin.

Blood hemoglobin

The number of fish sampled, the average hemoglobin content (grams per 100 ml. of blood) and the range of the hemoglobin content for untagged and tagged yellowfin and skipjack tunas are given in Table 9. There was no significant difference in the hemoglobin content of the blood between tagged and untagged fish of either species. The average blood hemoglobin content of 14.3 gm.% for the combined data for yellowfin was significantly lower ($p < 0.001$) than that of 16.7 gm.% for the combined skipjack data.

Mortalities in the live-box, and some general observations

Precise data were not obtained for the rates of mortalities of the tunas held in the live-box. The total numbers in each of the four groups held in the live-box, and the numbers in each group which died from all causes before the blood samples were taken are given in Table 10. The deaths include fish which became trapped and died behind the foam-lined panels, in addition to the deaths caused by handling, tagging and confinement. The data, at the very best, show only outstanding differences in the numbers of deaths between the groups. The skipjack, as noted previously, could not be kept alive in the live-box for longer than 10 hours after capture; the yellowfin, in some experiments, were alive after 24 hours in the live-box, at which time they were sacrificed.

The tagging cradle caused considerable abrasion to the fish, and a loss of the protective mucus coating. This was especially evident in those yellowfin which had been held for 24 hours. Large patches of raw skin

on the ventral and lateral surfaces of the belly, and hemorrhagic areas at the bases of the ventral fins were frequently noted.

DISCUSSION

Comparison between tunas and other fishes

The yellowfin and skipjack tunas are sufficiently similar in their general pattern of blood lactate response to severe activity to be considered together for a comparison with the lactate response in other fishes. There are four immediately apparent points of difference in the blood lactate response of tunas compared to those of other fishes. These differences are observed in : (1) the rapidity of the increase; (2) the degree of the increase; (3) the rapidity of the decline; and (4) the duration of "maximal activity" leading to the lactate response.

Peak concentrations of lactate were found in the blood of tunas within $\frac{1}{2}$ to $\frac{3}{4}$ of an hour after activity. This was in sharp contrast to the findings reported by Black, Robertson and Parker (1961) for freshwater salmonoids, where peak blood lactate levels were never attained in less than two hours and often required as long as $3\frac{1}{2}$ hours (temperature 11.5°C). The blood lactate peak in the chinook salmon was found at $3\frac{1}{2}$ to 4 hours after activity by Parker and Black (1959) (temperature $14-15^{\circ}\text{C}$). The data presented here for the changes in blood lactate levels of tunas are quite similar to those shown by Black, Robertson and Parker (1961) for alterations in muscle lactate levels, suggesting that the diffusion of lactate from muscle to blood in tunas is extremely rapid. This rapid removal may be due to a possible increase in the diffusion rate at the higher temperatures at which these experiments were performed (Johnson *et al.*, 1945). It may also be due in part to the highly developed circulatory system of the tunas and the complex of capillaries in the mass of dark muscle along the lateral median line (Kishinouye, 1923). Gemmill (1942) has suggested that the capillary networks of muscle tissues and the efficiency of circulation through the muscles may explain the unequal distribution of lactate in the muscle and blood of different species.

The maximum blood lactate levels were, in some tuna specimens, nine to 33 times greater than the average base level at capture. Increases, upon exercise, from six to ten times over resting blood levels were found in other fishes (Black, Robertson and Parker, 1961). Peak blood lactate levels in tuna ranged from 123 to 498 mg.%. Peak concentrations, after varying degrees of activity, in some other species are: cod muscle 130 mg.% (Leivestad, Andersen and Scholander, 1957); Kamloops trout blood 153 mg.%, and muscle 523 mg.% (Black, 1957a; Black *et al.*, 1962); chinook

salmon blood 240 mg.% (Parker and Black, 1959); and steelhead blood 423 mg.%, and muscle 426 mg.% (Nakatani, 1957). The relatively great alterations and high concentrations of blood lactate in the tunas could be due, among other possibilities, to an extremely vigorous response of the tunas to stimulation, to a high initial muscle-glycogen content, or to rapid diffusion of lactate from muscle to blood. Analyses of muscle lactate and glycogen are planned for future experiments, and should help to clarify the issue.

The blood lactate levels in the tunas declined steeply from the peak and, by 1½ hours, in yellowfin tuna, some were within the range of the base levels. In both species, lactate disappeared from the blood at a relatively fast rate, when compared with the rate of disappearance for carp, trout, and salmon (Secondat and Díaz, 1942; Black and associates, 1955-60; Parker and Black, 1959; and Parker, Black and Larkin, 1959). This difference in the rate of removal of lactate may be due to a much more rapid blood circulation in tunas, and possibly to the effects on the circulation of the continual muscular activity of swimming during the recovery period, as well as to effect of temperature. Black (1957c), noted that yearling sockeye salmon which continued to swim during the recovery period withstood fatigue well in contrast to trout which lay quiescent.

Of special interest is the remarkably short period of maximal activity (6 to 21 seconds) which led, ultimately, to these high blood lactate levels in the tunas. To attain an exercised condition in other fishes, Black and his associates have routinely used 15 minutes exercise; Nakatani (1957) exercised steelhead for 2½ to 18 minutes; and Parker and Black (1959) used three to 30 minutes on the trolling hook, for chinook salmon. Black and Barrett (1957), with only the stimulus of routine hatchery handling before transportation, did not raise the blood lactate levels of steelhead and cutthroat trout to those of fully exercised fish, although they noted significant increases in the lactate levels. Whether the peak blood lactate levels produced in tunas with this small amount of activity represent the maximum levels possible is still an open question. The blood samples of the tunas chased to exhaustion were taken immediately after the stimulation rather than at intervals during recovery.

Comparison between yellowfin and skipjack tunas

The difference in physiological response to capture and tagging between yellowfin and skipjack tunas may be partly accounted for by (1) a better circulatory system in the yellowfin; (2) a more vigorous reaction by the skipjack to the capture and tagging operation; and/or (3) a higher initial muscle-glycogen content in the skipjack.

The yellowfin and skipjack tunas, in common with the other tunas, have bands of dark, myoglobin-rich muscle along the lateral median line which are supplied with an extensive capillary network from major cutaneous arteries (Kishinouye, 1923; Godsil and Byers, 1944). In the yellowfin, these cutaneous arteries are large, and a great many fine vessels arise from them to nourish the dark flesh. In the skipjack, these cutaneous arteries are very much smaller, and the fine vessels leading from them to the dark muscle are relatively sparse. The yellowfin differs from the skipjack (and all other tunas) in the possession of a pair of arterial trunks, parallel to the aorta, which course from the efferent branchial vessels to the cutaneous arteries and provide a direct, additional source of oxygenated blood to the bands of dark muscle. Further, in the yellowfin, a posterior commissure (fusion of the dorsal and ventral branches of the cutaneous arteries at the caudal peduncle) is present. This is not so for the skipjack, or any of the other tunas. The significance of this commissure in terms of circulatory efficiency is not known. As pointed out by Black *et al.* (1962), the relatively high lactate levels and the prolonged recovery period following exercise in trout, as compared to mammals, are probably due in part to impaired circulation and the concomitant inadequate tissue oxygenation and decreased excretion. The differences in lactate levels and recovery times between skipjack and yellowfin tunas might well be due in part to the differences in circulatory efficiency between the two species.

Tester (1952), in his work on transporting live yellowfin and skipjack tunas, noted the "frantic" behavior of the skipjack in captivity compared with the "slow and leisurely" movements of the yellowfin. Convulsive shuddering, violent struggling and bleeding at the gills in skipjack are commonly noted by Commission personnel during the tagging operation. This is rarely the case for yellowfin. Although the reactions of the skipjack to confinement, noted by Tester, were not seen here, differences in behavior were apparent in these experiments during the tagging and blood-taking operations and sometimes during removal of the fish from the live-box. The greater degree of activity shown by the skipjack probably contributes to the greater lactate response observed.

There are no data available on the glycogen content of yellowfin and skipjack tuna muscle. Consequently the effect of differences, if any, cannot be evaluated, although the high levels of lactate built up, especially in the tagged skipjack, suggest that differences may exist.

Relation of these results to tagging operations

The tunas are active, fast-swimming fish. Hall's work on the closely related mackerel (1930) showed that this fish must swim continuously in order to pass water over its gills. Nakamura (MS), working on the trans-

portation of live skipjack, noted that the skipjack swam with its mouth open. Root's investigations on the oxygen dissociation curves of mackerel blood (1931) indicate, by inference, that at the high temperatures of these experiments the yellowfin and skipjack tunas may well be living near to the environmental limit of their oxygen requirements. The high hemoglobin content observed in tuna blood (Table 9)—high in relation to other fish hemoglobin values obtained with this same acid-hematin technique—may be in part a response to this environmental stress, more pronounced in skipjack than in yellowfin. It may also reflect an osmotic shift of water from the blood, following severe exercise (Black, 1955; Black *et al.*, 1962). The debilitating effects of maximal activity and high lactate levels in the muscles and blood of fishes are well documented, and have been reviewed by Black (1958) and Black *et al.* (1961 and 1962). There can be little doubt that the tagging of yellowfin and skipjack tunas results in a high rate of mortality. The data presented here indicate that this high mortality rate may be due in part to the severe degree of muscular activity undergone by the fish during the tagging operation. Swimming ability may be reduced through fatigue and a depletion of muscle-glycogen stores, thus rendering the fish more susceptible to predation and diminishing the rate of oxygen uptake. Oxygen uptake may be further reduced by the effect of high lactate levels on the oxygen-combining power of the red cells, and by a possible impairment of circulation which may accompany severe fatigue (Black *et al.*, 1962). Acid-base balance may also be distorted as a result of the high lactate levels. Damage to the protective mucus, through contact with the tagging cradle, may also throw a severe strain on the fish through disturbance of the osmoregulatory mechanism. These adverse conditions may persist for many hours after the actual tagging, thereby reducing the ability of the fish to feed, protect itself and respond normally to its environment. Under such conditions, full recovery might be delayed even longer. These factors must certainly be a major consideration in the appraisal of the very variable percentage returns of tagged yellowfin and skipjack tunas. The greater susceptibility of the skipjack to the tagging operation, as indicated by its physiological response, presumably contributes to the lower tag recovery rate for this species.

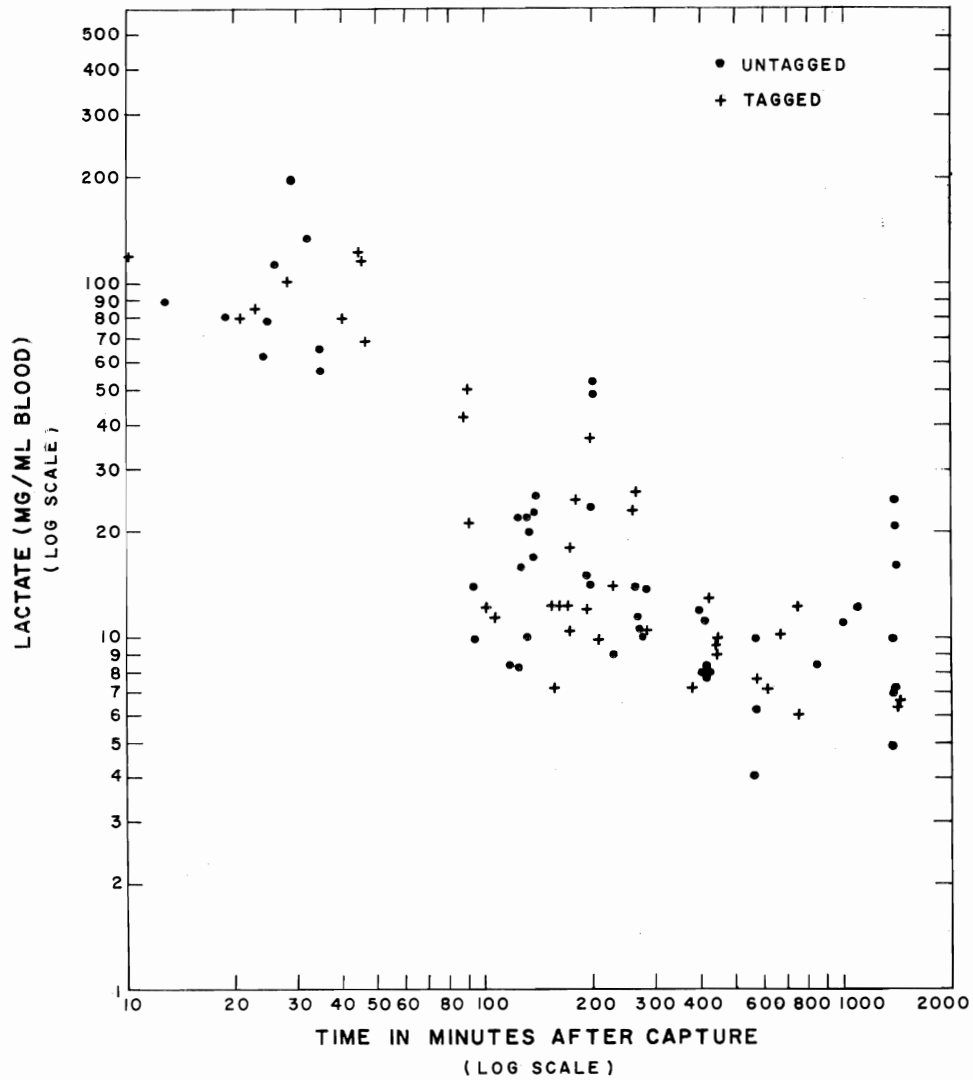


Figure 1. Blood lactate in untagged and tagged yellowfin tuna held in the live-box.

Figura 1. El lactato en la sangre de atunes aleta amarilla marcados y no marcados mantenidos en el vivero.

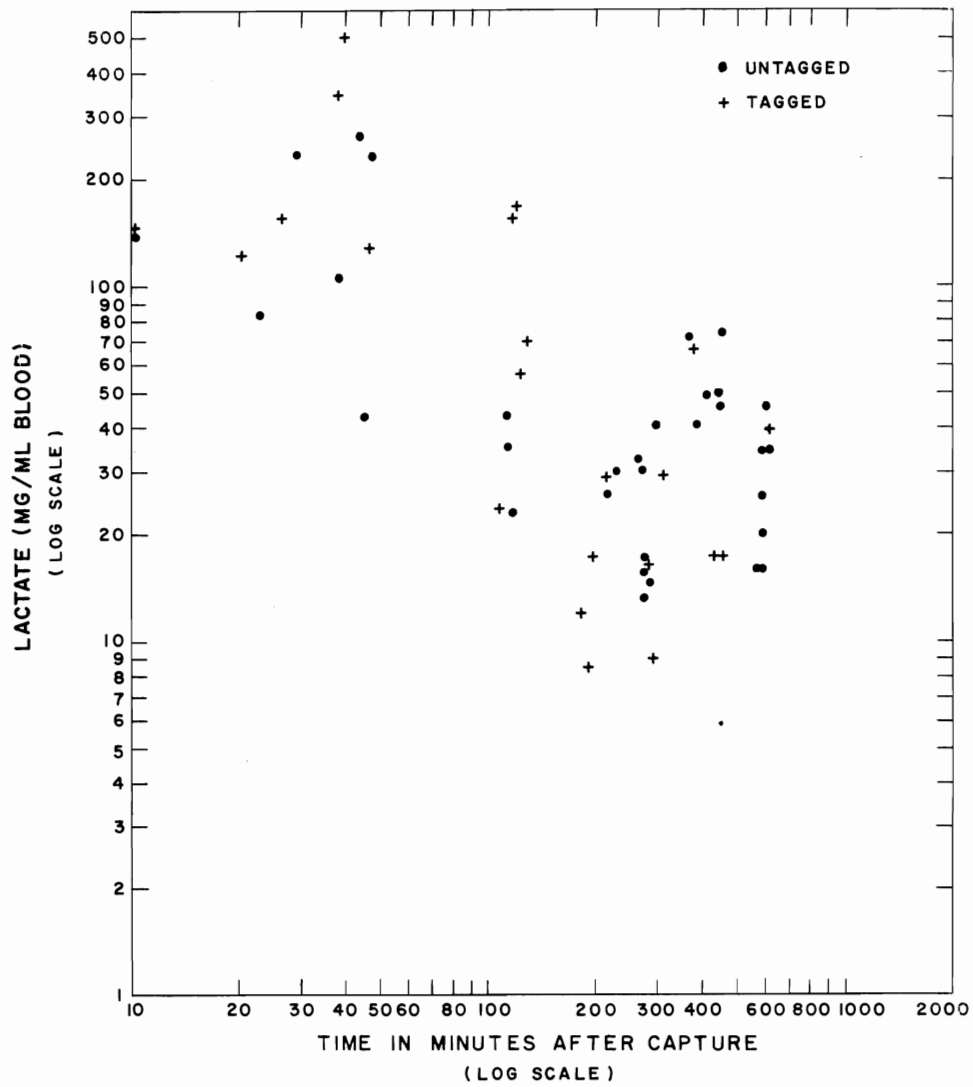


Figure 2. Blood lactate in untagged and tagged skipjack held in the live-box.

Figura 2. El lactato en la sangre de barriletes marcados y no marcados mantenidos en el vivero.

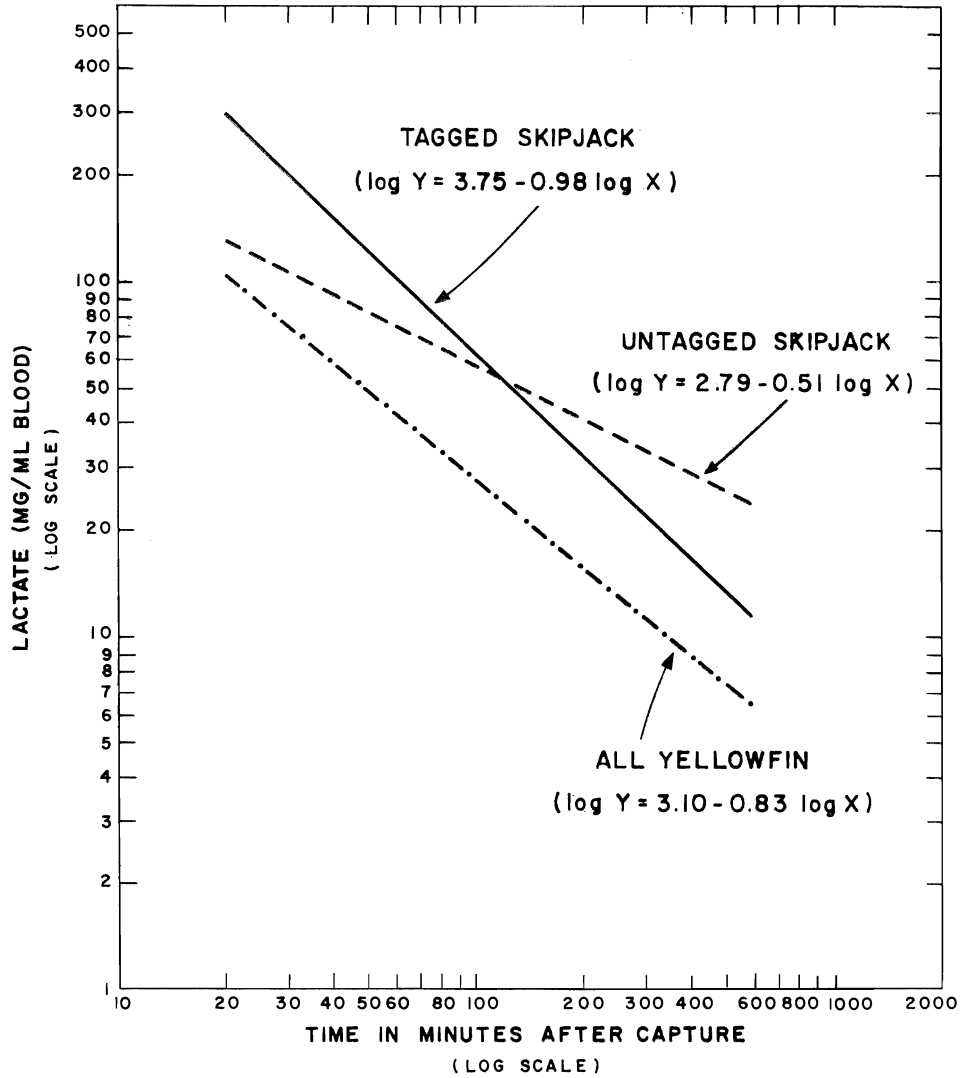


Figure 3. Regression lines of logarithm of blood lactate against logarithm of time held in the live-box, from 20 to 600 minutes, for all yellowfin and for untagged and tagged skipjack.

Figura 3. Líneas de regresión del logaritmo del lactato en la sangre contra el logaritmo del período mantenido en el vivero, de 20 a 600 minutos, para todos los atunes aleta amarilla y para los barriletes marcados y no marcados.

TABLE 1. Blood lactate in yellowfin tuna at capture, and after capture and tagging.**TABLA 1.** El lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla en el momento de la captura y después de la captura y de la marcación.

At capture			After capture and tagging		
Total length mm.	Time* seconds	Blood lactate mg. %	Total length mm.	Time* seconds	Blood lactate mg. %
En el momento de la captura			Después de la captura y de la marcación		
Longitud total en mm.	Tiempo* en segundos	Lactato en la sangre mg. %	Longitud total en mm.	Tiempo* en segundos	Lactato en la sangre mg. %
563	60	22.8	585	135	23.8
509	60	40.6	519	80	12.9
561	130	49.1	37	60	12.5
518	38	21.8	508-596**	60	20.6
—	27	6.0	"	27	29.8
585	40	11.0	"	31	16.3
508-596**	45	45.8	"	24	7.4
"	20	21.1	"	29	6.4
"	23	24.1	"	24	15.4
"	23	30.8	"	39	15.8
"	23	4.8	"	27	32.7
"	32	10.4	"	31	9.8
580	20	5.4	"	35	9.1
570	30	22.5	520	50	15.6
			565	28	17.3
			561	32	7.4
			556	23	9.1
Average \pm S.E.		22.5 \pm 3.9	Average \pm S.E.		15.4 \pm 1.9
Promedio \pm E.E.			Promedio \pm E.E.		

*from point of capture to withdrawal of syringe

*desde el momento de la captura hasta la remoción de la jeringa

**from a group of fish whose lengths were in this range

**de un grupo de peces cuyos tamaños cayeron dentro de esta amplitud

TABLE 2. Blood lactate in skipjack tuna at capture, and after capture and tagging.**TABLA 2.** El lactato en la sangre de los barriletes en el momento de la captura, y después de la captura y de la marcación.

At capture			After capture and tagging		
Total length mm.	Time seconds	Blood lactate mg. %	Total length mm.	Time seconds	Blood lactate mg. %
En el momento de la captura			Después de la captura y de la marcación		
Longitud total en mm.	Tiempo en segundos	Lactato en la sangre mg. %	Longitud total en mm.	Tiempo en segundos	Lactato en la sangre mg. %
556	35	9.2	529-621	90	8.4
575	40	12.4	"	38	10.5
580	55	10.5	"	35	7.6
540	40	7.7	"	20	4.8
529-621	55	31.4	"	50	20.1
555	35	66.1*	545	30	14.0
570	30	15.3	550	32	9.4
			555	30	16.8
			545	35	37.1
			570	32	19.5
			560	25	12.6
Average \pm S.E.		14.4 \pm 3.6			14.6 \pm 2.7
Promedio \pm E.E.					

*This value statistically eliminated from average ($\bar{X} + 2\sigma$)*Este valor ha sido eliminado del promedio por razones estadísticas ($\bar{X} + 2\sigma$)

TABLE 3. Blood lactate in yellowfin tuna held in live-box after capture.**TABLA 3.** El lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla mantenidos en el vivero después de la captura.

Time in live-box hours & minutes	Water temperature °C	Total length mm.	Hemoglobin gm. %	Blood lactate mg. %	Remarks
Tiempo en el vivero horas & minutos	Temperatura del agua °C	Longitud total en mm.	Hemoglobina gm. %	Lactato en la sangre mg. %	Comentarios
0-13	26.1	555		88.7	
0-19	"	580		81.3	
0-24	28.3	575		61.3	
0-25	"	655		79.4	
0-26	26.1	562		111.2	
0-29	28.3	650		197.6	
0-32	"	860		135.3	Nose torn—Nariz dañada
0-35	"	770		64.6	
0-35	"	590		57.6	
1-33	27.8	529		14.4	
1-35	"	600		9.8	
1-57	26.7-27.2	593		8.4	Eye injured—Ojo herido
2-04	28.3	565		8.3	
2-05	"	565		24.2	
2-07	"	585		16.0	
2-09	26.7-27.2	612		21.9	Struggled in cradle Luchó en la cuna
2-11	28.3	575		10.0	
2-13	26.7-27.2	644		19.9	
2-16	"	612	16.0	22.5	Held 2 minutes in crowder Retenido en la red de agrupamiento por 2 minutos
2-18	"	600	15.0	16.6	
2-20	"	579	16.5	25.3	
3-15	"	580		14.7	
3-17	"	581		14.3	
3-19	"	548		23.6	Held 2 minutes in crowder Retenido en la red de agrupamiento por 2 minutos
3-21	"	580	16.0	52.7	
3-23	"	571	16.0	48.8	Struggled in cradle Luchó en la cuna
3-51	27.0	599		9.1	
4-24	28.9	365	14.0	13.8	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
4-28	"	469		11.5	
4-31	"	509		10.6	
4-37	27.0	588		10.3	
4-42	"	607		13.8	
6-40	28.9	581		12.0	
6-51	"	529		11.2	
6-52	"	509		8.0	
6-55	"	365		8.2	
6-58	28.9	358		7.6	
7-00	"	493		7.9	
9-27	27.8	552		4.1	
9-35	"	570		6.3	
9-37	"	558		10.1	
14-01	28.3	585	14.5	8.4	
16-35	26.1-28.9	561	14.0	11.0	
18-20	"	590	11.5	12.3	
22-52	27.8	552		9.9	
22-54	"	597	13.0	4.9	

Table 3, No. 2

Time in live-box hours & minutes	Water temperature °C	Total length mm.	Hemoglobin gm. %	Blood lactate mg. %	Remarks
Tiempo en el vivero horas & minutos	Temperatura del agua °C	Longitud total en mm.	Hemoglobina gm. %	Lactato en la sangre mg. %	Comentarios
22-58	27.8	560	12.5	16.1	
23-58	26.7-27.8	557		5.9	
23-59	"	590	15.0	6.2	
24-01	"	585	13.0	24.7	Held 2 minutes in crowder Retenido en la red de agrupamiento por 2 minutos
24-05	"	564		20.9	

TABLE 4. Blood lactate in yellowfin tuna held in live-box after capture and tagging.**TABLA 4.** El lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla retenidos en el vivero después de la captura y de la marcación.

Time in live-box hours & minutes	Water temperature °C	Total length mm.	Hemoglobin gm. %	Blood lactate mg. %	Remarks
Tiempo en el vivero horas & minutos	Temperatura del agua °C	Longitud total en mm.	Hemoglobina gm. %	Lactato en la sangre mg. %	Comentarios
0-10	26.1	565		116.0	
0-21	"	558		78.5	
0-23	"	523		81.8	
0-28	"	583		98.8	
0-39	28.3	595		79.9	
0-44	"	580		122.8	
0-45	26.1	576		116.0	
0-47	28.3	600		68.5	
1-27	27.8	610		42.2	
1-29	"	513		50.4	
1-31	"	595		21.2	
1-51	27.0	611		11.8	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
1-57	"	520		11.4	
2-34	"	576		12.2	
2-37	"	580		7.2	
2-43	"	555		12.3	
2-50	28.3	582	14.0	12.4	
2-54	27.0	599		10.4	
2-54	28.3	568	15.0	18.0	Held 2 minutes in crowder Retenido en la red de agrupamiento por 2 minutos
3-00	"	536	14.0	24.8	Struggled in cradle Luchó en la cuna
3-13	27.0	558		12.0	
3-17	"	578		36.7	
3-29	28.3	579	15.5	9.7	
3-50	27.0	592		13.9	
4-20	28.9	506	13.0	23.3	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
4-23	"	417	13.5	26.0	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
4-45	27.0	630		10.6	
6-20	28.9	584		7.2	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
7-00	"	471		13.3	
7-13	28.3	529		9.0	
7-18	"	517		9.6	
7-21	"	607		10.0	
9-34	27.8	545		7.7	Struggled in cradle Luchó en la cuna
10-06	"	512		7.2	
11-15	"	582		10.3	Fish weak when sampled Pez débil en el momento del muestreo
12-28	28.3	594	12.3	6.0	
12-37	"	585	15.5	12.2	
24-24	27.8	607	15.0	6.4	
24-30	"	520		6.7	

TABLE 5. Comparison of blood lactate with times held (from 20 to 600 minutes) among untagged and tagged yellowfin and skipjack tunas.

TABLA 5. Comparaciones del lactato en la sangre con los períodos de retención (desde 20 a 600 minutos) entre atunes aleta amarilla y barriletes marcados y no marcados.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	Variance ratio
Causa de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	Razón de la variancia
Untagged vs. tagged yellowfin				
Atunes aleta amarilla no marcados vs. marcados				
Deviations from regression for untagged yellowfin.....	37	1.9030	0.051	$\frac{0.051}{0.046} = 1.11$
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla no marcados				
Deviations from regression for tagged yellowfin.....	30	1.3767	0.046	
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla marcados				
Deviations from individual regression.....	67	3.2797	0.049	$\frac{0.0026}{0.049} = 0.05$
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.0026	0.0026	
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	68	3.2823	0.048	$\frac{0.014}{0.048} = 0.29$
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	0.0137	0.014	
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	69	3.2960		
Desviaciones de la regresión total.....				
Untagged vs. tagged skipjack				
Barriletes no marcados vs. marcados				
Deviations from regression for untagged skipjack.....	27	2.0038	0.074	
Desviaciones de la regresión de los barriletes no marcados.....				
Deviations from regression for tagged skipjack.....	19	2.3917	0.126	$\frac{0.126}{0.074} = 1.70$
Desviaciones de la regresión de los barriletes marcados.....				
Deviations from individual regression.....	46	4.3955	0.096	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.4559	0.456	$\frac{0.456}{0.096} = 4.75^*$
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	47	4.8514	0.103	
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	0.042	0.042	
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	48	4.893		
Desviaciones de la regresión total.....				

Table 5, No. 2

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	Variance ratio
Causa de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	Razón de la variancia
All yellowfin vs. untagged skipjack				
Todos los atunes aleta amarilla vs. los barriletes no marcados				
Deviations from regression for all yellowfin.....	69	3.296	0.048	
Desviaciones de la regresión de todos los atunes aleta amarilla.....				
Deviations from regression for untagged skipjack.....	27	2.0038	0.074	$\frac{0.074}{0.048} = 1.54$
Desviaciones de la regresión de los barriletes no marcados.....				
Deviations from individual regression.....	96	5.2998	0.055	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.3880	0.3880	
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	97	5.6877	0.059	$\frac{0.3880}{0.055} = 7.09^{**}$
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	3.4366	3.437	
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	98	9.1243		
Desviaciones de la regresión total.....				
All yellowfin vs. tagged skipjack				
Todos los atunes aleta amarilla vs. los barriletes marcados				
Deviations from regression for all yellowfin.....	69	3.296	0.048	
Desviaciones de la regresión de todos los atunes aleta amarilla.....				
Deviations from regression for tagged skipjack.....	19	2.3917	0.126	$\frac{0.126}{0.048} = 2.62^{**}$
Desviaciones de la regresión de los barriletes marcados.....				
Deviations from individual regression.....	88	5.6877	0.065	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.0574	0.057	$\frac{0.057}{0.065} = 0.87$
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	89	5.7451	0.065	
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	1.8518	1.852	$\frac{1.852}{0.065} = 28.49^{**}$
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	90	7.5969		
Desviaciones de la regresión total.....				

Table 5, No. 3

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	Variance ratio
Causa de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	Razón de la variancia
Untagged yellowfin vs. untagged skipjack				
Atunes aleta amarilla no marcados vs. los barriletes no marcados				
Deviations from regression for untagged yellowfin.....	37	1.9030	0.051	
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla no marcados				
Deviations from regression for untagged skipjack.....	27	2.0038	0.074	$\frac{0.074}{0.051} = 1.45$
Desviaciones de la regresión de los barriletes no marcados.....				
Deviations from individual regression.....	64	3.9068	0.061	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.2792	0.279	
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	65	4.1860	0.064	$\frac{0.279}{0.061} = 4.58^*$
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	2.8977	2.898	
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	66	7.0837		
Desviaciones de la regresión total.....				
Untagged yellowfin vs. tagged skipjack				
Atunes aleta amarilla no marcados vs. los barriletes marcados				
Deviations from regression for untagged yellowfin.....	37	1.9030	0.051	
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla no marcados				
Deviations from regression for tagged skipjack.....	19	2.3917	0.126	$\frac{0.126}{0.051} = 2.47^*$
Desviaciones de la regresión de los barriletes marcados.....				
Deviations from individual regression.....	55	4.2947	0.077	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.0596	0.060	$\frac{0.060}{0.077} = 0.77$
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	57	4.3543	0.076	
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	1.7586	1.759	$\frac{1.759}{0.076} = 23.14^{**}$
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	58	6.0129		
Desviaciones de la regresión total.....				

Table 5, No. 4

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	Variance ratio
Causa de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	Razón de la variancia
Tagged yellowfin vs. untagged skipjack				
Atunes aleta amarilla marcados vs. los barriletes no marcados				
Deviations from regression for tagged yellowfin.....	30	1.3767	0.046	
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla marcados				
Deviations from regression for untagged skipjack.....	27	2.0038	0.074	$\frac{0.074}{0.046} = 1.61$
Desviaciones de la regresión de los barriletes no marcados.....				
Deviations from individual regression.....	57	3.3805	0.059	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.2959	0.296	$\frac{0.296}{0.059} = 5.02^*$
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	58	3.6764	0.063	
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	2.1799	2.180	
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	59	5.8563		
Desviaciones de la regresión total.....				
Tagged yellowfin vs. tagged skipjack				
Atunes aleta amarilla marcados vs. los barriletes marcados				
Deviations from regression for tagged yellowfin.....	30	1.3767	0.046	
Desviaciones de la regresión de los atunes aleta amarilla marcados				
Deviations from regression for tagged skipjack.....	19	2.3917	0.126	$\frac{0.126}{0.046} = 2.74^{**}$
Desviaciones de la regresión de los barriletes marcados.....				
Deviations from individual regression.....	49	3.7684	0.077	
Desviaciones de la regresión individual.....				
Difference between regression coefficients.....	1	0.0363	0.036	$\frac{0.036}{0.077} = 0.46$
Diferencia entre los coeficientes de regresión.....				
Deviations from average regression within groups.....	50	3.8047	0.076	
Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....				
Difference between adjusted means.....	1	1.3205	1.320	$\frac{1.320}{0.076} = 17.37^{**}$
Diferencia entre los promedios ajustados.....				
Deviations from total regression.....	51	5.1252		
Desviaciones de la regresión total.....				

Table 5, No. 5

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	Variance ratio
Causa de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	Razón de la variancia
Tagged skipjack (abridged)¹ vs. untagged skipjack				
Barriletes marcados (abreviado)¹ vs. los barriletes no marcados				
Deviations from regression for tagged skipjack (abridged)..... Desviaciones de la regresión de los barriletes marcados (abreviado)	15	1.4985	0.100	$\frac{0.100}{0.074} = 1.35$
Deviations from regression for untagged skipjack..... Desviaciones de la regresión de los barriletes no marcados.....	27	2.0038	0.074	
Deviations from individual regression..... Desviaciones de la regresión individual.....	42	3.5023	0.083	$\frac{0.189}{0.083} = 2.28$
Difference between regression coefficients..... Diferencia entre los coeficientes de regresión.....	1	0.1894	0.189	
Deviations from average regression within groups..... Desviaciones de la regresión promedio dentro de los grupos.....	43	3.6917	0.086	$\frac{0.251}{0.086} = 2.92$
Difference between adjusted means..... Diferencia entre los promedios ajustados.....	1	0.2507	0.251	
Deviations from total regression..... Desviaciones de la regresión total.....	44	3.9424		

*Significant difference at 0.05 level

*Diferencia significativa al nivel de 0.05

**Significant difference at 0.01 level

**Diferencia significativa al nivel de 0.01

¹See text, page 241¹Véa el texto, página 271

TABLE 6. Blood lactate in skipjack held in live-box after capture.**TABLA 6.** El lactato en la sangre de los barriletes retenidos en el vivero después de la captura.

Time in live-box hours & minutes	Water temperature °C	Total length mm.	Hemoglobin gm. %	Blood lactate mg. %	Remarks
Tiempo en el vivero horas & minutos	Temperatura del agua °C	Longitud total en mm.	Hemoglobina gm. %	Lactato en la sangre mg. %	Comentarios
0-10	27.8	605		129.6	
0-23	"	570		82.8	
0-29	"	580		236.0	Held 2 minutes in crowder; dying Retenido en la red de agrupamiento por 2 minutos; moribundo
0-38	"	570		106.4	Dying—Moribundo
0-43	28.9	590	18.5	262.9	Some extra handling during sampling Algún manejo extra durante el muestreo
0-45	"	498	18.0	43.2	Some extra handling during sampling Algún manejo extra durante el muestreo
0-47	26.1	523		231.7	
1-52	28.9	500	16.0	43.3	
1-54	"	506	16.0	35.0	
1-59	"	509		23.0	
3-37	27.8-28.3	550	15.5	26.2	
3-47	"	585		30.4	
4-27	28.9	557	18.5	32.6	
4-31	27.8	553	17.0	30.1	Struggled in cradle Luchó en la cuna
4-32	"	567	15.0	13.1	Struggled in cradle Luchó en la cuna
4-35	"	545	15.5	15.4	Struggled in cradle Luchó en la cuna
4-37	"	577		17.3	Struggled in cradle Luchó en la cuna
4-44	27.8-28.1	557		14.9	
4-58	"	534		41.0	
6-25	28.9	503		40.8	Used dip net, in live-box Se usó un carcal en el vivero
6-50	"	520		49.2	
7-20	"	525		49.7	
7-25	"	515		46.0	
7-35	"	505		74.2	
9-17	28.3	533		16.1	
9-48	27.8	565		25.5	Struggled in cradle Luchó en la cuna
9-51	27.8-29.3	565		34.3	Struggled in cradle Luchó en la cuna
9-53	"	615	16.0	15.9	
9-56	"	540	15.5	35.3	Panic in crowder Pánico en la red de agrupamiento
9-58	"	570	17.0	45.9	Evaded capture in live-box for 5 minutes Eludió ser capturado en el vivero por 5 minutos

TABLE 7. Blood lactate in skipjack held in live-box after capture and tagging.**TABLA 7.** El lactato en la sangre de los barriletes retenidos en el vivero después de la captura y de la marcación.

Time in live-box hours & minutes	Water temperature °C	Total length mm.	Hemoglobin gm. %	Blood lactate mg. %	Remarks
Tiempo en el vivero horas & minutos	Temperatura del agua °C	Longitud total en mm.	Hemoglobina gm. %	Lactato en la sangre mg. %	Comentarios
0-10	27.8	525		142.3	
0-20	"	530		121.6	
0-26	"	540		154.6	
0-38	"	585		350.5	
0-39	28.9	500	17.0	497.8	Some extra handling during sampling Algún manejo extra durante el muestreo
0-47	"	487	17.5	128.7	Some extra handling during sampling Algún manejo extra durante el muestreo
1-48	"	523	17.5	23.6	
1-55	"	511		154.1	
2-00	"	530	18.5	169.0	
2-04	28.3	530	17.0	56.9	Struggled violently in cradle Luchó violentamente en la cuna
2-08	"	575	16.0	70.1	Struggled violently in cradle Luchó violentamente en la cuna
2-10	"	565		47.6	
3-03	"	541	16.0	11.8	
3-11	27.8-28.1	545		8.4	
3-15	"	568		17.3	
3-33	28.3	557	15.0	28.8	
4-42	27.8	546		16.2	Weak when sampled Débil en el momento del muestreo
4-50	"	561		8.8	Weak when sampled Débil en el momento del muestreo
5-05	"	542	17.0	29.5	Weak when sampled Débil en el momento del muestreo
6-10	28.9	543		65.5	
7-15	28.3	548		17.4	
7-26	"	555		17.4	
10-07	27.8-28.3	575		38.8	

TABLE 8. Blood lactate in yellowfin and skipjack tunas chased to exhaustion.**TABLA 8.** El lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla y de los barriletes que fueron perseguidos hasta el agotamiento.

	Time chased		Total length mm.	Blood lactate mg. %
	min.	sec.		
	Tiempo de la persecución		Longitud total en mm.	Lactato en la sangre mg. %
	min.	seg.		
Yellowfin.....	5	27	605	27.2
Atunes aleta amarilla.....	7	35	590	42.5
	9	12	590	97.8
	11	13	525	39.4
Skipjack.....	4	50	590	49.8
Barriletes.....	8	35	560	88.3
	9	40	520	130.0
	12	00	630	166.9

TABLE 9. Hemoglobin content of yellowfin and skipjack tuna blood.**TABLA 9.** El contenido de hemoglobina en la sangre de los atunes aleta amarilla y de los barriletes.

	Yellowfin		Skipjack	
	Untagged	Tagged	Untagged	Tagged
	Atunes aleta amarilla		Barriletes	
	No marcados	Marcados	No marcados	Marcados
Fish sampled.....	13	9	12	9
Peces muestreados.....				
Mean (gm. %).....	14.4	14.2	16.5	16.8
Media.....				
Range (gm. %).....	11.5-16.5	12.5-15.5	15.0-18.5	15.0-18.5
Amplitud.....				
Standard error.....	0.41	0.41	0.43	0.43
Error estándar.....				

TABLE 10. Mortalities, before sampling of yellowfin and skipjack tunas held in the live-box.***TABLA 10.** Mortalidad de los atunes aleta amarilla y de los barriletes en el vivero, antes del muestreo.*

		Number held	Number died before sampling
		Número retenido	Número de muertos antes del muestreo
Yellowfin:	Untagged	61	9
Atunes aleta amarilla:	No marcados		
	Tagged	60	21
	Marcados		
Skipjack:	Untagged	35	5
Barriletes:	No marcados		
	Tagged	58	33
	Marcados		

*This is a special case and cannot be taken as true tagging mortality (see text, page 241).

*Este es un caso especial y no puede considerarse como la verdadera mortalidad por la marcación (véase el texto página 272).

**EL LACTATO EN LA SANGRE DEL ATUN ALETA AMARILLA,
NEOTHUNNUS MACROPTERUS, Y DEL BARRILETE, KATSUWONUS
PELAMIS, DESPUES DE LA CAPTURA Y DE LA MARCACION^{1, 2}**

por

Izadore Barrett y Anne Robertson Connor³

INTRODUCCION

El personal de la Comisión Interamericana del Atún Tropical ha estado investigando durante varios años la historia natural, la estructura de la población, los hábitos y la ecología del atún aleta amarilla, *Neothunnus macropterus*, y del barrilete, *Katsuwonus pelamis*, en el Océano Pacífico Oriental Tropical. La marcación y el subsiguiente recobro de estos atunes tropicales, lo que da información sobre la estructura de la población, los movimientos migratorios y las tasas de crecimiento y de mortalidad, son importantes aspectos de estas investigaciones. Broadhead (1959) y Schaefer, Chatwin y Broadhead (1961) destacan las muchas dificultades que hay para marcar estos peces activos en extremo pero delicados, y proporcionan considerable evidencia que sugiere que la mortalidad por la marcación es bastante alta, siendo quizás de 60 a 80 por ciento. Los autores citados sugieren que esta elevada mortalidad por la marcación está relacionada con los efectos de la hiperactividad producida por la operación de marcación.

Que la violenta actividad de los peces puede conducirlos a la muerte fué por primera vez apreciada por von Buddenbrock (1938), quien notó que la sangre en las agallas de los peces que muestran extrema actividad en un vivero presenta un color obscuro (por la pobreza de oxígeno), y que la subsiguiente muerte está asociada con altos niveles de lactato en la sangre, presumiblemente originados por la utilización del glicógeno en los músculos como resultado de la actividad. La presencia de alto contenido de lactato en la sangre después de hacer ejercicios ha sido confirmada por Secondat y Díaz (1942), Black (1955, 1957a, b, c.), Black *et al.* (1959 y 1960), Nakatani (1957), Miller, Sinclair y Hochachka (1959) y otros en varias especies de peces tanto de agua dulce como salada. También se ha informado sobre el aumento de los niveles de lactato después de usar otros tipos de estímulo como el manipuleo y transporte de peces (Black, 1956; Black y Barrett, 1957), el transporte y siembra de truchas de criadero (Miller, 1958), y la exposición al aire (Leivestad, Andersen y Scholander,

1—Contribución de la Comisión Interamericana del Atún Tropical y del Departamento de Fisiología de la University of British Columbia, Vancouver, Canada.

2—Este estudio ha sido financiado en parte por el National Research Council of Canada.

3— Científica Adjunta, Departamento de Fisiología, University of British Columbia.

1957). La relación del aumento de lactato en la sangre, durante y después de la cautividad, con el aumento de lactato en los músculos y la disminución de glicógeno en el almacenamiento muscular, ha sido demostrada y ampliamente expuesta por Black *et al.* (1960, 1961 y 1962). Se ha registrado mortalidad en ciertas especies de peces después de severo ejercicio (Secondat y Díaz, 1942; Black, 1957c; Bates y Vinsonhaler, 1957); después de la captura con cuerda y anzuelo ("trolling") y con red de agalla (Huntsman, 1938; Parker y Black, 1959; Parker, Black y Larkin, 1959); lo mismo que después de las operaciones de marcación (Parker y Kirkness, 1956; Milne y Ball, 1956 y 1958). Algunos de estos autores han puesto en evidencia una correlación entre una elevación muy alta de lactato en la sangre y la mortalidad (Secondat y Díaz, 1942; Black, 1957c; Parker y Black, 1959; Parker, Black y Larkin, 1959).

El presente estudio, el primero de una serie sobre la fatiga muscular en el atún, se ha hecho con el propósito de investigar la posibilidad de que las altas tasas de mortalidad y el porcentaje tan variable en los recobros de atunes marcados sean debidos a los diversos efectos de un aumento de lactato en la sangre ocasionado por la operación de marcación.

RECONOCIMIENTO

Los autores desean agradecer al Capitán A. Castagnola, al Primer Ingeniero T. Silvero y a la tripulación del clíper atunero *Barbara K.* por su inapreciable ayuda. El Sr. John E. Kinnear, del personal de la Comisión, cooperó en los experimentos a bordo del barco. El trabajo analítico realizado por los autores en el Departamento de Fisiología de la University of British Columbia, Vancouver, Canada, fué financiado en parte con fondos (T-7) proporcionados por el National Research Council of Canada al Dr. Edgar C. Black. Es con especial placer que se rinde reconocimiento al Dr. Black por su apoyo moral, ayuda y sugerencias que tuvo a bien hacer.

MATERIAL Y METODOS

Durante los meses de marzo y abril de 1961, la Comisión del Atún contrató el clíper atunero comercial *Barbara K.* para marcar y liberar atunes en las aguas del Océano Pacífico frente a la costa de América Central; a bordo de este barco fué que se efectuaron los experimentos en referencia. Los peces fueron capturados por el sistema de carnada viva (Godsil, 1938) y marcados con dardos (Broadhead, 1959). Los atunes aleta amarilla empleados en los experimentos pesaban aproximadamente de cinco a ocho libras; los barriletes de cuatro a siete libras. Estos representan más bien peces de tamaños manejables que un muestreo al azar de los peces que captura la pesquería.

Se tomaron muestras de sangre de los peces no marcados y de los marcados de ambas especies inmediatamente después de la captura (muestras de la barandilla), y también después de mantenerlos en un vivero durante varios intervalos hasta 24 horas después de la captura (muestras del vivero). También se tomaron muestras de sangre de peces no marcados a los que se persiguió en los viveros hasta dejarlos exhaustos.

Los peces no marcados que se emplearon para las muestras de la barandilla fueron arrojados en una especie de cuna para marcar en forma de V, forrada con esponja sintética ("foam rubber") y mantenida en una caja de madera llena de agua montada en el pasamanos del costado del barco, detrás del pescador. Se ponía al pez en posición invertida, se le removía el anzuelo sin púa y se le sacaba una muestra de sangre por medio de punción cardíaca, según lo descrito por Black (1955). Luego se mataba al pez y se medía la longitud total, haciendo lo mismo con todos los peces de los cuales se extrajeron muestras de sangre. El promedio de tiempo entre la captura y la extracción de la jeringa fué de 40.8 ± 7.8 segundos¹ (amplitud, 20 a 130 segundos) en 14 atunes aleta amarilla y de 41.3 ± 3.2 segundos (amplitud, 30 a 55 segundos) en seis barriletes.

Los peces marcados que se emplearon para las muestras de la barandilla se arrojaban en la cuna usada para la marcación en donde se les removía el anzuelo y se les aplicaba la marca en la forma rutinaria. Luego, en vez de devolver el pez al agua, se le trasladaba a la cuna dentro de la caja adyacente llena de agua en donde se le sacaba la muestra de sangre. El promedio de tiempo entre la captura, mediando la marcación y la extracción de la jeringa fué de 45.1 ± 6.4 segundos (amplitud, 23 y 135 segundos) en 17 atunes aleta amarilla y de 38.5 ± 5.2 segundos (amplitud, 20 a 90 segundos) en 11 barriletes.

El vivero en el que se mantenía a los peces después de la captura y de la marcación era uno de tipo estándar de los que se usan para conservar la carnada viva a bordo del barco. Fué modificado forrando los cuatro lados con una capa de esponja de poliuretano de una pulgada de espesor pegada a unas planchas de madera enchapada que se sujetaban con alambre a las tuberías del refrigerador del vivero; además, se colocaron planchas de madera en las esquinas para dar al vivero una forma octagonal. El forro de esponja sintética fué usado para prevenir el que los peces se golpearan contra las paredes de la caja; esta precaución resultó ser innecesaria y en realidad peligrosa para los peces, ya que éstos morían cuando quedaban atrapados detrás de las planchas de madera enchapada forradas con esponja sintética que a veces se desprendían de las paredes del vivero; este forro no será empleado en experimentos futuros. El vivero medía

¹—Todas las desviaciones usadas en este estudio representan el error estándar.

2.7 m. de ancho, 4.2 m. de largo y 1.6 m. de profundidad, con capacidad para unos 18,000 litros de agua de mar. En el brocal (106 cm. cuadrados) en la parte superior central del vivero el agua alcanzaba 18 cm.; ésto impedía con éxito la formación de oleaje. La corriente de agua de mar que entraba difusamente por la esquina delantera del fondo, pasando a lo largo del vivero era de aproximadamente 3,900 litros por minuto. La temperatura del agua en el vivero durante los experimentos varió de 26.1° a 28.9°C (79° a 84°F) y se mantuvo siempre igual a la temperatura ambiente del mar.

Para las muestras del vivero, los peces fueron capturados con anzuelo y arrojados del agua a la cubierta en donde estaban los tanques de carnada, a una distancia de unos 15 pies. Los peces no marcados fueron echados directamente al agua dentro del vivero y se les sacaba el anzuelo sin púa. Esta operación, desde el momento de morder el anzuelo hasta el momento de la liberación del pez en el vivero, tardó un promedio de 8.0 ± 0.3 segundos (amplitud, 6 a 16 segundos) en 61 atunes aleta amarilla, y de 7.1 ± 0.2 segundos (amplitud, 6 a 9 segundos) en 35 barriletes. Los peces marcados que iban a ser mantenidos en el vivero fueron colocados en una cuna de marcar tipo estándar que se encontraba en la cubierta donde están los tanques de carnada; en esta cuna se les mantenía expuestos al aire mientras se les removía el anzuelo y se les insertaba la marca de dardo, después de lo cual fueron puestos en el agua dentro del vivero. Esto tardó, desde el momento de la captura hasta el momento de la entrada al vivero, un promedio de 15.6 ± 0.5 segundos (amplitud 12 a 21 segundos) en 60 atunes aleta amarilla, y de 14.4 ± 0.2 segundos (amplitud, 13 a 16 segundos) en 58 barriletes. Después de períodos predeterminados durante los cuales fueron mantenidos los peces en el vivero, se les removía con el mayor cuidado posible para no perturbar a los otros peces. La remoción se hizo con una red de agrupamiento ("crowder net") y, ocasionalmente, con un carcal. Los peces fueron transportados a la cuna dentro de la caja llena de agua, en donde se tomaban las muestras de sangre. Estas muestras solamente fueron extraídas de los peces vivos.

Cuatro atunes aleta amarilla y cuatro barriletes fueron perseguidos hasta un estado de agotamiento antes de tomarles las muestras de sangre, para lo que se hizo bajar el agua del vivero a un pie y medio a dos pies y luego se persiguió y azuzó a los peces hasta que se tendieron exhaustos sobre sus costados. Las muestras de sangre se tomaron en la forma usual.

Cuando se echó a los peces al agua del vivero, inmediatamente comenzaron a nadar en círculos cerca del borde del vivero y así continuaron durante el tiempo en que allí se les mantuvo. Durante estos experimentos no hubo diferencia aparente entre la conducta observada en el vivero por los atunes aleta amarilla y por los barriletes. No se perturbó a los peces

deliberadamente, excepto cuando hubo necesidad de sacarlos para el muestreo, o cuando fué necesario remover los muertos. Los peces no manifestaron reacción alguna por las actividades exteriores o cuando la gente pasaba cerca de la cubierta en donde se encontraba el vivero; éste estuvo constantemente iluminado por lámparas colocadas tanto bajo el agua como colgadas arriba. No se alimentó a los peces durante su permanencia en el vivero. No se encontró gran dificultad en mantener a los atunes aleta amarilla en el vivero durante 24 horas después de su captura, que fué el límite de tiempo establecido para los experimentos. Sin embargo, no fué posible mantener vivos a los barriletes por más de diez horas.

Hasta 30 peces fueron colocados al mismo tiempo en el vivero, a pesar de que el contenido usual al comenzar un experimento fué de unos 15 ejemplares. A veces se pusieron simultáneamente peces de las dos especies en el vivero. Por supuesto, no fué posible llevar cuenta exacta de la hora de entrada en el vivero de cada uno de los peces no marcados, pero se hizo todo esfuerzo para poner un grupo entero de dichos peces dentro del vivero en el tiempo más corto posible; el período máximo fué de quince minutos. En consecuencia, los períodos de mantenimiento de los peces no marcados son aproximados solamente. En cuanto a los peces marcados, en la mayoría de los casos se anotó el número de la marca y el momento exacto de la entrada al vivero. Los resultados que se presentan en este estudio están basados en una serie de experimentos y en un número de grupos diferentes de peces.

La sangre se obtuvo por punción cardiaca con una jeringa "Luer" de 2 ml. ligeramente mojada con heparina y lubricada con aceite de parafina. La sangre fué vaciada en una probeta baja y de ésta se extrajo una muestra de 1 ml. que se vació, a su vez, en un frasco "Erlenmeyer" de 50 ml. que contenía 9.0 ml. de ácido tricloroacético frío al 10 por ciento. La mezcla fué filtrada durante unos quince minutos y luego congelada en una botella de polietileno de una onza. Las soluciones filtradas de la sangre de los atunes aleta amarilla presentaban un típico color paja pálido; en cambio, las de la sangre de los barriletes eran de un desusado verde pálido. Sin embargo, este último color no causó interferencia aparente en los procedimientos analíticos. Las muestras se mantuvieron congeladas hasta su análisis con respecto al contenido de lactato, para lo cual se empleó el método de Barker y Summerson (1941) en el Departamento de Fisiología de la University of British Columbia. Los valores de lactato fueron calculados en miligramos por cada 100 ml. de sangre (mg.%) y son el promedio de dos o más análisis. La solución estándar de 0.05 mg.% de ácido láctico dió un valor promedio corregido (lectura del colorímetro de Klett para la solución estándar menos la lectura para la solución de los reactivos solamente) de 144.2 ± 0.7 para 37 determinaciones, lo que indica la precisión del método de análisis.

Las determinaciones del contenido de hemoglobina fueron hechas en algunas de las muestras de sangre de los peces mantenidos en el vivero, para lo que se usó la sangre que quedó en la probeta después de haber sacado el mililitro para los análisis de lactato. Las determinaciones se hicieron por el método ácido-hematina y con el empleo del hemoglobímetro de Sahli-Hellige. Los valores han sido expresados en gramos por cada 100 ml. de sangre. A pesar de que ha sido demostrado recientemente que esta técnica da valores de hemoglobina altos y variables de la sangre de los peces (Anthony, 1961), el contenido de hemoglobina de la sangre de las dos especies fué suficientemente diferente (ver más adelante) como para permitir el uso de estos datos a fin de mostrar niveles relativos.

Deben tenerse en cuenta varias fuentes de error y de limitaciones. Estas incluyen, entre otras:

1. los niveles iniciales de glicógeno en los músculos de los peces;
2. la variable cantidad de ejercicio y del uso de las reservas de glicógeno antes de la captura;
3. el continuo nadar de los atunes en el vivero (y cualquier otra tensión concomitante en ese confinamiento);
4. la variedad de tiempo empleada en tomar las muestras de sangre;
5. la excitación de los peces que permanecen en el vivero durante la remoción de los que se sacan para el muestreo; y
6. el error inherente al método usado para la determinación del lactato.

RESULTADOS

Muestras de la barandilla

Las Tablas 1 y 2 presentan los niveles de lactato en los atunes aleta amarilla y barriletes, respectivamente, en el momento de la captura y después de la captura y de la marcación. Las pruebas "t" se usaron para comparar las diferencias en los niveles de lactato en la sangre entre los atunes aleta amarilla no marcados y los marcados, entre los barriletes no marcados y los marcados, y entre los peces de las dos especies; estas pruebas no dieron diferencias significativas. El promedio de lactato en la sangre de estos cuatro grupos varió entre 14.4 y 22.5 mg.%. Estos niveles de lactato en la corriente sanguínea han sido considerados como los niveles básicos para este estudio. Estos valores son ligeramente más altos que los valores de lactato registrados en otras especies antes de ser sometidas a ejercicios (Black, Robertson y Parker, 1961, Tabla 8), lo que puede ser debido al mayor grado de actividad entre la captura inicial y el muestreo bajo condiciones prevalentes en el terreno de la operación, o bien a un nivel más alto de actividad de los atunes en condiciones estables del ambiente

natural. En ocasiones, los niveles promedio de lactato durante el recobro fueron más bajos que los de las muestras de la barandilla (Tablas 3, 4, 6 y 7). Los valores de lactato más bajos registrados después del mantenimiento de los peces en el vivero pueden ser atribuidos a la enorme reducción en las reservas de glicógeno y/o a una menor actividad en el vivero que en el océano.

Muestras del vivero

Atunes aleta amarilla

Los niveles de lactato en la sangre y los períodos de confinamiento en el vivero aparecen en la Tabla 3 con respecto a 51 atunes aleta amarilla no marcados y en la Tabla 4 con relación a 39 ejemplares marcados. La relación entre el nivel de lactato y el tiempo de confinamiento después de la captura y de la marcación obviamente no fué lineal. Para facilitar el análisis, los datos fueron convertidos a valores logarítmicos. La regresión del nivel de ácido láctico (Y) sobre el tiempo de confinamiento (X) en la fórmula $\log Y = a + b \log X$ resultó aproximadamente en una transformación a una relación lineal entre más o menos media hora y diez horas (Figura 1).

Los valores individuales en la Tabla 3 y en la Figura 1 demuestran que después de un término de 13 minutos había un nivel de 90 mg.% de lactato en la corriente sanguínea de los atunes aleta amarilla no marcados. A los 29 minutos, el nivel en uno de los peces había alcanzado un máximo de unos 200 mg.%, o sea un aumento de nueve veces sobre el nivel base promedio, y el valor medio fué de unos 115 mg.%. El contenido de lactato de la sangre descendió constantemente desde ese máximo, de modo que durante una hora y media los valores de lactato en la sangre de algunos peces se situaron dentro de la amplitud de los valores base. Después de unas cuatro horas y media de recobro, los niveles de lactato en la sangre de cuatro atunes aleta amarilla no marcados dieron un promedio de 11.5 mg.%. La mayoría de los peces se mantuvo a este nivel o debajo hasta la terminación del experimento a las 24 horas. Los altos valores ocasionales registrados después de tres horas son probablemente debidos a algún estímulo extra inmediatamente antes del muestreo, en vista de la extrema rapidez con que el lactato aparece en la sangre (Black *et al.*, 1962).

El patrón correspondiente a los atunes aleta amarilla marcados fué esencialmente similar al de los no marcados. Un examen de los valores individuales de la Tabla 4 y de la Figura 1 demuestra que, dentro de 10 minutos a partir de la marcación, el nivel de lactato había aumentado a 116 mg.%. El lactato permaneció más o menos a este nivel por tres cuartos de hora, y luego descendió constantemente, de modo que después de una y

media a dos horas de recobro los valores correspondientes a algunos peces se encontraban dentro de la amplitud de los valores base de los atunes aleta amarilla marcados. El contenido de lactato continuó bajando constantemente y después de cuatro horas y media el nivel promedio (18.4 mg.%) era sólo ligeramente más alto que el nivel base promedio de los atunes aleta amarilla marcados. Después de siete horas de recobro, el nivel promedio (10.4 mg.%) estaba debajo de los niveles base y se mantuvo así durante el tiempo que duró el experimento.

Se calculó un análisis de covariancia del logaritmo de los niveles de lactato en la sangre contra el logaritmo de los períodos de confinamiento en el vivero, para valores de 20 a 600 minutos para los atunes aleta amarilla marcados y no marcados. Este período fué seleccionado: (a) para una comparación fácil con los resultados de los experimentos con los barriletes que fueron terminados después de diez horas y (b) porque la regresión parece ser lineal dentro de esta amplitud. No hubo diferencias significativas entre las desviaciones de la regresión de los dos grupos, entre las pendientes de las líneas (es decir, entre las tasas de desaparición de lactato de la sangre), o entre los niveles de las líneas de regresión que representan el valor medio de lactato en la sangre en varios momentos (Tabla 5).

Barriletes

Los niveles de lactato en la sangre y los períodos de confinamiento en el vivero aparecen en la Tabla 6 con respecto a 30 barriletes no marcados y en la Tabla 7 con relación a 23 ejemplares marcados. Los datos fueron tratados en la misma forma que los de los atunes aleta amarilla. La Figura 2 presenta la relación entre el logaritmo del nivel de lactato contra el logaritmo del período de confinamiento en el vivero.

El examen de los valores individuales en la Tabla 6 y en la Figura 2 evidencia que, después de los primeros diez minutos, un nivel de 130 mg.% de lactato estaba presente en la sangre de un barrilete no marcado. Después de unos tres cuartos de hora, el nivel alcanzó un valor máximo de 263 mg.% en uno de los peces, o sea un aumento de 18 veces sobre el promedio del nivel base, y el valor medio fué de unos 160 mg.%. De allí en adelante el nivel descendió constantemente hasta que, después de unas diez horas de recobro cuando terminó el experimento, el promedio del nivel de lactato en la sangre fué de 31 mg.% en cinco peces. Los niveles de lactato en la sangre se mantuvieron sobre los niveles base durante todo el experimento. La gran variación en los niveles de lactato en la sangre de cada uno de los barriletes en cualquier momento determinado fué especialmente notable.

De un examen de los valores individuales correspondientes a los

barriletes marcados, Tabla 7 y Figura 2, parece que después de los primeros diez minutos el nivel de lactato en la sangre subió del nivel base promedio (unos 15 mg.%) a 142 mg.%. El contenido de lactato aumentó a un máximo de 498 mg.% en un pez a los 39 minutos, o sea un aumento de 33 veces y un valor promedio de unos 325 mg.%, después de lo cual los niveles cayeron constantemente. La gran variabilidad en los niveles y el poco número de especímenes en los períodos más largos de confinamiento permite sugerir solamente que al terminar las diez horas de recobro los niveles se aproximan a los de la primera captura y marcación. Los niveles de 350 y 498 mg.% a los 38 y 39 minutos, y los de 154 y 169 mg.% a los 115 y 120 minutos, son altos comparados con los niveles después de los mismos períodos de recobro en los otros especímenes y pueden representar peces con una reacción algo diferente al procedimiento experimental. Sin embargo, estos datos fueron incluidos en los análisis estadísticos.

Se calculó un análisis de covariancia del logaritmo de los niveles de lactato en la sangre contra el logaritmo de los períodos de confinamiento en el vivero, para valores de 20 a 600 minutos, con respecto a los barriletes marcados y a los no marcados. No hubo diferencia significativa entre las desviaciones de la regresión de los dos grupos. Sin embargo, hubo una diferencia de significación entre las pendientes de los dos grupos (es decir, las tasas de desaparición de lactato de la corriente sanguínea) (Tabla 5). El lactato en la sangre alcanza inicialmente un nivel más alto, disminuye, a una tasa de rapidez mayor y, a las diez horas, toma un nivel más bajo en los barriletes marcados que en los no marcados. No obstante, como se verá más adelante (página 271), cuando se eliminan los datos de los cuatro peces probablemente aberrantes, no hay entonces diferencia digna de observación entre la regresión correspondiente a los peces marcados y la de los no marcados.

Comparación entre los atunes aleta amarilla y los barriletes

Las diversas comparaciones entre los atunes aleta amarilla y los barriletes marcados y no marcados, hechas de conformidad con los análisis de covariancia, aparecen en la Tabla 5. Las líneas de regresión que indican la relación entre el nivel de lactato y el tiempo de confinamiento correspondientes a todos los atunes aleta amarilla combinados, a los barriletes no marcados y a los barriletes marcados, pueden encontrarse en la Figura 3. La correlación de los datos de las Tablas 1, 2 y 5 y de las Figuras 1, 2 y 3 hace posibles algunas generalizaciones concernientes a los niveles de lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla y de los barriletes. Como no había diferencias estadísticas entre los niveles de lactato de los atunes aleta amarilla marcados y los no marcados, estos datos han sido combinados para las siguientes comparaciones:

1. los niveles de lactato en la sangre de los atunes aleta amarilla y

barriletes en el momento de la captura, e inmediatamente después de la captura y de la marcación, no son significativamente diferentes;

2. los aumentos en los niveles de lactato en la sangre llegan a ser aparentes en ambas especies de atún dentro de los primeros diez minutos de recobro, y alcanzan sus puntos máximos en un período de media hora a tres cuartos de hora. El aumento es mayor en los barriletes que en los atunes aleta amarilla, y mayor en los barriletes marcados que en los no marcados;
3. la tasa de desaparición del lactato en la sangre es más lenta en los barriletes no marcados que en los atunes aleta amarilla;
4. la tasa de desaparición del lactato en la sangre de los barriletes marcados es más rápida que en la de los atunes aleta amarilla; y
5. la variación en los niveles de lactato en la sangre en cualquier momento dado es mayor en los barriletes que en los atunes aleta amarilla.

Parker y Black (1959) demostraron que la muerte de ciertos salmones "chinook" en sus experimentos estaba significativamente relacionada con altos niveles de lactato en la sangre. Si se supone que los cuatro barriletes marcados que presentaban altos niveles de lactato en la sangre (a que se hizo referencia anteriormente) hubiesen muerto en el vivero sin haber sido muestreados, pueden ser omitidos especulativamente del cálculo del análisis de covariancia. Entonces no hay una diferencia significativa entre las desviaciones de la regresión, entre las tasas de desaparición del lactato (pendientes), ni entre las elevaciones de las dos líneas de regresión correspondientes a los barriletes (Tabla 5).

Peces perseguidos hasta el agotamiento

El tiempo de persecución hasta el agotamiento de los peces y la cantidad de lactato contenido en la sangre de cada uno de los cuatro atunes aleta amarilla y de los cuatro barriletes al momento de su agotamiento se dan en la Tabla 8. Hubo un aumento, con el tiempo, del nivel de lactato en la sangre en el momento del agotamiento en ambas especies, con la excepción de un atún aleta amarilla a los 11 minutos. Los valores de lactato en la sangre fueron de nuevo más altos en los barriletes que en los atunes aleta amarilla.

Hemoglobina en la sangre

En la Tabla 9 se da el número de peces muestreados, el promedio del contenido de hemoglobina (en gramos por cada 100 ml. de sangre) y la amplitud del contenido de hemoglobina de los atunes aleta amarilla y de los barriletes marcados y no marcados. No hubo diferencia significativa

en cuanto al contenido de hemoglobina en la sangre entre los peces marcados y no marcados de ambas especies. El promedio de 14.3 mg.% de hemoglobina en la sangre, correspondiente a los datos combinados de los atunes aleta amarilla, fué significativamente más bajo ($p < 0.001$) que el correspondiente a los datos combinados de los barriletes que fué de 16.7 mg.%.

Mortalidad en el vivero y algunas observaciones generales

No se han obtenido datos precisos sobre las tasas de mortalidad de los atunes mantenidos en el vivero. El número total en cada uno de los cuatro grupos mantenidos en el vivero, y el número en cada grupo que murió de toda clase de causas antes de que las muestras de sangre fueran tomadas, se dan en la Tabla 10. El total de muertes incluye peces que quedaron atrapados y murieron detrás de los paneles forrados con esponja sintética, además de las muertes producidas por el manipuleo, marcación y confinamiento. En el mejor de los casos, los datos muestran solamente diferencias resaltantes en el número de muertes entre los grupos. Los barriletes, como se anotó previamente, no pueden ser guardados vivos en los viveros por un tiempo mayor de 10 horas después de la captura; en algunos experimentos, los atunes aleta amarilla vivieron hasta después de 24 horas en el vivero y fueron luego sacrificados.

La cuna para la marcación causó abrasión considerable a los peces, así como también una pérdida de la capa mucosa protectora. Esto se hizo especialmente evidente en los atunes aleta amarilla que habían sido mantenidos durante 24 horas en el vivero. Frecuentemente se notaron grandes despellejamientos en las superficies ventrales y laterales del abdomen, así como áreas hemorrágicas en las bases de las aletas ventrales.

DISCUSION

Comparación entre los atunes y otros peces

Los atunes aleta amarilla y los barriletes son suficientemente similares en cuanto a su reacción de lactato en la sangre ocasionada por severa actividad como para que sean comparados conjuntamente con respecto a esta misma reacción en otros peces. Hay cuatro puntos de diferencia inmediatamente aparentes en la reacción de lactato en la sangre de los atunes comparada con la que se opera en otros peces; estas diferencias son observadas: (1) en la rapidez del aumento; (2) en el grado del aumento; (3) en la rapidez de la disminución; y (4) en la duración de la "actividad máxima" que conduce a la reacción de lactato.

Las concentraciones máximas de lactato fueron encontradas en la

sangre de los atunes dentro de un período de media hora a tres cuartos de hora después de la actividad a que fueron sometidos los peces. Esto contradice abiertamente lo observado por Black, Robertson y Parker (1961) en salmonoides de agua dulce, en los que los niveles máximos de lactato en la sangre no fueron alcanzados nunca en menos de dos horas y a menudo requirieron hasta tres horas y media (temperatura de 11.5°C). Parker y Black (1959) encontraron el máximo del lactato en el salmón "chinook" tres horas y media a cuatro horas después de la actividad (temperatura de 14-15°C). Los datos presentados aquí, correspondientes a los cambios en los niveles de lactato en la sangre de los atunes, son bastante similares a los que dan Black, Robertson y Parker (1961) sobre las alteraciones en los niveles de lactato en los músculos, sugiriendo que la difusión del lactato de los músculos a la sangre en los atunes es rápida en extremo. Esta rápida remoción puede ser debida a un posible aumento en la tasa de difusión a temperaturas más altas a que se hicieron estos experimentos (Johnson *et al.*, 1945). Esto puede ser también debido, en parte, al sistema circulatorio altamente desarrollado en los atunes y al complejo de los vasos capilares en la masa del músculo obscuro a lo largo de la línea media lateral (Kishinouye, 1923). Gemmill (1942) ha sugerido que las redes de vasos capilares de los tejidos de los músculos y la eficiencia de la circulación en éstos puede explicar la distribución desigual del lactato en los músculos y en la sangre en diferentes especies.

Los niveles máximos de lactato en la sangre, en algunos especímenes de atunes, fueron 33 veces mayores que el nivel base promedio en el momento de la captura. Debido al ejercicio, en otros peces se registraron aumentos de seis a diez veces sobre los niveles de la sangre de cuando estaban en reposo (Black, Robertson y Parker, 1961). Los niveles máximos de lactato en la sangre de los atunes variaron de 123 a 498 mg.%. Las concentraciones máximas, después de diversos grados de actividad, en algunas otras especies son: en los músculos del bacalao, 130 mg.% (Leivestad, Andersen y Scholander, 1957); en la sangre de la trucha "Kamloops", 153 mg.% y en los músculos, 523 mg.% (Black, 1957a; Black *et al.*, 1962); en la sangre del salmón "chinook", 240 mg.% (Parker y Black, 1959); y en la sangre de la trucha "steelhead", 423 mg.% y en los músculos, 426 mg.% (Nakatani, 1957). Las alteraciones relativamente grandes y las altas concentraciones de lactato en la sangre de los atunes podrían ser debidas, entre otras posibilidades, a una reacción extremadamente vigorosa de estas especies por estimulación, a un alto contenido inicial de glicógeno en los músculos, o a una rápida difusión del lactato de los músculos a la sangre. Se planean futuros experimentos para analizar el lactato y el glicógeno en los músculos, los que sin duda ayudarán a clarificar estos problemas.

Los niveles de lactato en la sangre de los atunes descendieron aguda-

mente de su máximo y, pasada hora y media, en algunos atunes aleta amarilla estaban dentro de la amplitud de los niveles base. En ambas especies el lactato desapareció de la sangre a una tasa relativamente rápida comparada con la tasa de desaparición en las carpas, truchas y salmones (Secondat y Díaz, 1942; Black y asociados, 1955-60; Parker y Black, 1959; y Parker, Black y Larkin, 1959). Esta diferencia en la tasa de la remoción del lactato puede ser debida a una mucho más rápida circulación de la sangre en los atunes, y posiblemente a los efectos en la circulación debidos a la continua actividad muscular producida por la natación durante el período de recobro, así como a los efectos de la temperatura. Black (1957c) hizo notar que los salmones "sockeye" en su primer año que siguen nadando durante el período de recobro soportan bien la fatiga, en contraste con las truchas que se mantienen en quietud.

De especial interés es el remarcable corto período de máxima actividad (seis a 21 segundos) que produce finalmente estos altos niveles de lactato en la sangre de los atunes. Para lograr una condición de fatiga en otros peces, Black y asociados han empleado rutinariamente 15 minutos de ejercicio; Nakatani (1957) mantuvo en movimiento por dos y medio a 18 minutos a las truchas "steelhead"; y Parker y Black (1959) emplearon de tres a treinta minutos en la pesca con anzuelo y cuerda con el salmón "chinook". Black y Barrett (1957) con solamente el estímulo del manipuleo rutinario en el criadero antes del transporte, no pudieron levantar los niveles de lactato en la sangre de las truchas "steelhead" y "cutthroat" a la altura de los alcanzados en peces ejercitados por completo, aunque notaron aumentos significativos en dichos niveles. Es todavía un interrogante si los niveles máximos de lactato en la sangre producidos en los atunes por esta pequeña actividad representan los niveles más altos posibles. Las muestras de sangre de los atunes perseguidos hasta su agotamiento fueron tomadas inmediatamente después de este ejercicio y no a intervalos durante el recobro.

Comparación entre los atunes aleta amarilla y los barriletes

La diferencia en la reacción fisiológica por la captura y el muestreo entre los atunes aleta amarilla y los barriletes puede ser parcialmente tomada en cuenta por (1) un mejor sistema circulatorio en los atunes aleta amarilla; (2) por una reacción más vigorosa de los barriletes a la captura y a la operación de marcación; y/o (3) por un más alto contenido inicial de glicógeno en los músculos de los barriletes.

Los atunes aleta amarilla y los barriletes, lo mismo que otros túnidos, tienen a lo largo de la línea media lateral bandas de músculos oscuros, ricos en mioglobina, las cuales están alimentadas por extensas redes de vasos capilares provenientes de importantes arterias cutáneas (Kishinouye,

1923; Godsil y Byers, 1944). En los atunes aleta amarilla, estas arterias cutáneas son grandes y de ellas surge una gran cantidad de vasos capilares que nutren la carne oscura. En los barriletes, estas arterias cutáneas son mucho más pequeñas y los vasos capilares que se desprenden de ellas para alimentar los músculos oscuros están relativamente esparcidos. Los atunes aleta amarilla difieren de los barriletes (y de todos los otros atunes) en que poseen un par de troncos arteriales paralelos a la aorta, que van de los vasos branquiales a las arterias cutáneas y constituyen una fuente directa adicional de sangre oxigenada para las bandas de músculos oscuros. Además, en los atunes aleta amarilla está presente una comisura posterior (fusión de las ramas dorsal y ventral de las arterias cutáneas en el pedúnculo caudal); esto no ocurre en los barriletes ni en ninguno de los otros atunes. No se sabe qué significación puede tener esta comisura en lo que respecta a la eficiencia circulatoria. Como ha sido indicado por Black *et al.* (1962) sobre la trucha, los niveles relativamente altos de lactato y el prolongado período de recobro que sigue al ejercicio, comparados con los mamíferos, son probablemente debidos, en parte, a la circulación menos eficiente lo mismo que a la inadecuada oxigenación de los tejidos y a la excreción disminuida, ambas concomitantes. Las diferencias en los niveles de lactato y en los períodos de recobro entre los barriletes y los atunes aleta amarilla, bien podrían ser debidos, en parte, a las diferencias en la eficiencia circulatoria entre las dos especies.

Tester (1952), en su trabajo sobre transporte de atunes aleta amarilla y barriletes vivos, hace notar la conducta “frenética” de los barriletes en cautividad comparada con los movimientos “lentos y perezosos” de los atunes aleta amarilla. El estremecimiento convulsivo, la lucha violenta y la hemorragia en las agallas de los barriletes han sido corrientemente observados por el personal de la Comisión durante las operaciones de marcación; ésto ocurre muy rara vez en los atunes aleta amarilla. A pesar de que las reacciones de los barriletes por el confinamiento, anotadas por Tester, no han sido vistas aquí, las diferencias en la conducta resaltaron en el curso de estos experimentos durante la marcación y la extracción de sangre, y algunas veces durante la remoción de los peces del vivero. El mayor grado de actividad demostrado por los barriletes probablemente contribuye a la mayor reacción observada en el lactato.

No se dispone de datos sobre el contenido de glicógeno en los músculos de los atunes aleta amarilla y de los barriletes. En consecuencia, no se puede valorar el efecto de las diferencias, si alguna hubiera, aún cuando los altos niveles de lactato que se presentan, especialmente en los barriletes marcados, sugieren que esas diferencias pueden existir.

Relacion de los anteriores resultados con las operaciones de marcación

Los atunes son peces activos, de rápidos movimientos natatorios. El

estudio de Hall (1930) sobre la macarela, una especie relacionada muy de cerca con los atunes, demostró que aquella tiene que nadar continuamente con el propósito de hacer pasar el agua sobre sus agallas. Nakamura (MS), al trabajar sobre el transporte de barriletes vivos, notó que estos peces nadaban con la boca abierta. Las investigaciones de Root (1931) sobre las curvas de disociación de la sangre de la macarela indican, por inferencia, que a las altas temperaturas de nuestros experimentos, los atunes aleta amarilla y barriletes bien pueden vivir cerca del límite ambiental de sus necesidades de oxígeno. El alto contenido de hemoglobina observado en la sangre de los atunes (Tabla 9)—alto con relación a los valores de hemoglobina en otros peces obtenidos con esta misma técnica del ácido-hematina—puede ser en parte una reacción a esta tensión ambiental más pronunciada en los barriletes que en los atunes aleta amarilla. Esto también puede reflejar un cambio osmótico del agua de la sangre a continuación de un violento ejercicio (Black, 1955; Black *et al.*, 1962). Los efectos debilitantes de la máxima actividad y los altos niveles de lactato en los músculos y en la sangre de los peces están bien documentados y han sido revisados por Black (1958) y Black *et al.* (1961 y 1962). Poca duda puede haber acerca de que la marcación de los atunes aleta amarilla y de los barriletes da como resultado una alta tasa de mortalidad. Los datos de este estudio indican que esta alta tasa de mortalidad puede ser debida, en parte, al intenso grado de actividad muscular desarrollada por los peces durante la operación de marcación. La habilidad para nadar puede ser reducida por la fatiga y por la merma de las reservas de glicógeno en los músculos, lo que hace a los peces más susceptibles de ser capturados por los predadores, y disminuye su capacidad en la toma de oxígeno; ésta puede ser reducida aún más por el efecto de los altos niveles de lactato en la capacidad de combinar el oxígeno que tienen las células rojas, y por una posible menor eficiencia de la circulación a la que puede acompañar una intensa fatiga (Black *et al.*, 1962). El equilibrio ácido-base puede ser también cambiado por el efecto de los altos niveles de lactato. El daño de la capa mucosa protectora debido al contacto con la cuna de marcar puede también producir un intenso esfuerzo en los peces a causa del disturbio del mecanismo osmoregulador. Estas condiciones adversas pueden persistir muchas horas a partir del momento de la marcación, por lo que reduce la capacidad de los peces para comer, para protegerse y para reaccionar con normalidad en su ambiente. Bajo tales condiciones, la completa recuperación podría demorarse mucho más tiempo. Ciertamente, estos factores tienen que ser objeto de una importante consideración al evaluar el porcentaje tan variable en el recobro de atunes aleta amarilla y barriletes marcados. La mayor susceptibilidad de los barriletes a la operación de marcación, según lo indica su reacción fisiológica, se presume que contribuye a la menor tasa de recuperación de esta especie.

LITERATURE CITED — BIBLIOGRAFIA CITADA

Anthony, E. H.

- 1961 The oxygen capacity of goldfish (*Carassius auratus* L.) blood in relation to thermal environment.
J. Exp. Biol., Vol. 38, pp. 93-107.

Barker, S. B. and W. H. Summerson

- 1941 The colorimetric determination of lactic acid in biological material.
J. Biol. Chem., Vol. 138, pp. 535-554.

Bates, D. W. and R. Vinsonhaler

- 1957 Use of louvers for guiding fish.
Trans. Am. Fish. Soc., Vol. 86, pp. 38-57.

Black, E. C.

- 1955 Blood levels of hemoglobin and lactic acid in some freshwater fishes following exercise.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 12, No. 6, pp. 917-929.
- 1956 Appearance of lactic acid in the blood of Kamloops and lake trout following live transportation.
Can. Fish Culturist, No. 18, pp. 20-27.
- 1957a Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. I. Kamloops trout, *Salmo gairdneri*.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 14, No. 2, pp. 117-134.
- 1957b Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. II. Lake trout, *Salvelinus namaycush*.
Ibid., Vol. 14, No. 4, pp. 645-649.
- 1957c Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. III. Sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*.
Ibid., Vol. 14, No. 6, pp. 807-814.
- 1958 Hyperactivity as a lethal factor in fish.
Ibid., Vol. 15, No. 4, pp. 573-586.

Black, E. C. and I. Barrett

- 1957 Increase in levels of lactic acid in the blood of cutthroat and steelhead trout following handling and live transportation.
Can. Fish Culturist, No. 20, pp. 13-24.

Black, E. C., W-G. Chiu, F. D. Forbes and A. R. Hanslip

- 1959 Changes in pH, carbonate, and lactate of the blood of yearling Kamloops trout, *Salmo gairdneri* during and following severe muscular activity.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 16, No. 4, pp. 391-402.

Black, E. C., A. C. Robertson, A. R. Hanslip and W-G. Chiu

- 1960 Alterations in glycogen, glucose and lactate in rainbow and Kamloops trout, *Salmo gairdneri*, following muscular activity.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 17, No. 4, pp. 487-500.

Black E. C., A. C. Robertson, and R. R. Parker

- 1961 Some aspects of carbohydrate metabolism in fish.
in "Comparative physiology of carbohydrate metabolism in heterothermic animals", Arthur W. Martin (ed.) University of Washington Press, Seattle, 168 pp.

Black, E. C., A. R. Connor, K-C. Lam, and W-G. Chiu

- 1962 Changes in glycogen, pyruvate and lactate in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during and following muscular activity.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 19, No. 3, *in press*.

Broadhead, G. C.

- 1959 Techniques used in the tagging of yellowfin and skipjack tunas in the Eastern Tropical Pacific Ocean during 1955-1957.
Proc. Gulf and Carib. Fish. Inst., 11th Ann. Session, Nov. 1958, pp. 91-99.

Buddenbrock, W. von

- 1938 Beobachtungen über das Sterben gefangener Seefische und über den Milchsäuregehalt der Fischblutes.
Rapp. et Proc. Verb., Cons. Inter. Explor. Mer., Vol. 101 (IV/2), pp. 3-7.

Gemmill, Chalmers

- 1942 The fuel for muscular exercise.
Physiol. Rev., Vol. 22, pp. 32-53.

Godsil, H. C.

- 1938 The high seas tuna fishery of California.
Cal. Div. Fish and Game, Fish Bull. No. 51, 41 pp.

Godsil, H. C. and R. D. Byers

- 1944 A systematic study of the Pacific tunas.
Cal. Div. Fish and Game, Fish Bull. No. 60, 131 pp.

Hall, F. G.

- 1930 The ability of the common mackerel and certain other marine fishes to remove dissolved oxygen from sea water.
Amer. J. Physiol., Vol. 93, pp. 417-421.

Huntsman, A. G.

- 1938 Overexertion as a cause of death of captured fish.
Science, Vol. 87, pp. 577-578.

Johnson, R. E., H. T. Edwards, D. B. Dill and J. W. Wilson

- 1945 Blood as a physiochemical system. XIII. The distribution of lactate.
J. Biol. Chem., Vol. 157, pp. 461-473.

Kishinouye, Kamakichi

- 1923 Contributions to the comparative study of the so-called Scombroid fishes.
Jour. Coll. Agric. (Tokyo), Vol. 8, No. 3, pp. 293-475.

Leivestad, H., H. Andersen and P. F. Scholander

- 1957 Physiological response to air exposure in cod fish.
Science, Vol. 126, pp. 505.

Miller, R. B.

- 1958 The role of competition in the mortality of hatchery trout.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 15, No. 1, pp. 27-45.

Miller, R. B., A. C. Sinclair and P. W. Hochachka

- 1959 Diet, glycogen reserves and resistance to fatigue in hatchery rainbow trout.
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 16, No. 3, pp. 321-328.

Milne, D. J. and E. A. R. Ball

- 1956 The mortality of small salmon when caught by trolling and tagged or released untagged.
Fish. Res. Bd. Canada, Pacific Progress Rept., No. 106, pp. 10-13.
- 1958 The tagging of spring and coho salmon in the Strait of Georgia in 1956.
Ibid., No. 111, pp. 14-18.

Nakamura, E. L.

- M.S. The establishment and behavior of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) in captivity.
Information manuscript, Pac. Tuna Biol. Conf., Honolulu, 1961.

Nakatani, R. E.

- 1957 Changes in the inorganic phosphate and lactate levels in blood plasma and muscle tissue of adult steelhead trout after strenuous swimming.
School of Fisheries, University of Washington, Tech. Rept. No. 30, 14 pp.

Parker, R. R. and W. Kirkness

- 1956 King salmon and the ocean troll fishery of Southeastern Alaska.
Alaska Dept. of Fish., Res. Rept. No. 1, 64 pp.

Parker, R. R. and E. C. Black

- 1959 Muscular fatigue and mortality in troll-caught chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*).
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 16, No. 1, pp. 95-106.

Parker, R. R., E. C. Black and P. A. Larkin

- 1959 Fatigue and mortality in troll-caught Pacific salmon (*Oncorhynchus*).
J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 16, No. 4, pp. 429-448.

Root, R. W.

- 1931 The respiratory function of the blood of marine fishes.
Biol. Bull., Vol. 61, pp. 427-456.

Secondat, M. and D. Díaz

- 1942 Recherches sur la lactacidémie chez le poisson d'eau douce.
Comp. Rend. Acad. Sci., Paris, Vol. 215, pp. 71-73.

Schaefer, M. B., B. M. Chatwin and G. C. Broadhead

- 1961 Tagging and recovery of tropical tunas, 1955-1959.
Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Bull., Vol. 5, No. 5, pp. 341-416 (English), pp. 417-455 (Spanish).

Tester, A. L.

- 1952 Establishing tuna and other pelagic fishes in ponds and tanks.
U.S. Dept. Int., Fish and Wildlife Serv., Spec. Sci. Rept.: Fish., No. 71, 20 pp.