

**INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISION INTERAMERICANA DEL ATUN TROPICAL**

Bulletin—Boletín

Vol. 21, No. 2

**ESTIMATES OF AGE AND GROWTH, AND AN ASSESSMENT OF AGEING
TECHNIQUES, FOR NORTHERN BLUEFIN TUNA,
THUNNUS THYNNUS, IN THE PACIFIC OCEAN**

**ESTIMACIONES DE LA EDAD Y CRECIMIENTO, Y UNA EVALUACION DE LAS
TECNICAS DE DETERMINAR LA EDAD, DEL ATUN ALETA AZUL DEL NORTE,
THUNNUS THYNNUS, EN EL OCEANO PACIFICO**

by—por
Terry Foreman

La Jolla, California

1996

The Inter-American Tropical Tuna Commission operates under the authority and direction of a convention originally entered into by Costa Rica and the United States. The convention, which came into force in 1950, is open to adherence by other governments whose nationals fish for tropical tunas in the eastern Pacific Ocean. Under this provision Panama adhered in 1953, Ecuador in 1961, Mexico in 1964, Canada in 1968, Japan in 1970, France and Nicaragua in 1973, Vanuatu in 1990, and Venezuela in 1991. Ecuador withdrew from the Commission in 1968, Mexico in 1978, and Canada in 1984.

The IATTC's responsibilities are met with two programs, the Tuna-Billfish Program and the Tuna-Dolphin Program. The principal responsibilities of the Tuna-Billfish Program are (1) to study the biology of the tunas and related species of the eastern Pacific Ocean to estimate the effects that fishing and natural factors have on their abundance and (2) to recommend appropriate conservation measures so that the stocks of fish can be maintained at levels which will afford maximum sustainable catches. The principal responsibilities of the Tuna-Dolphin Program are (1) to monitor the abundance of dolphins and their mortality incidental to fishing through the collection of data aboard tuna purse seiners fishing in the eastern Pacific Ocean, (2) to analyze these data and make appropriate recommendations for the conservation of dolphins, (3) to study the causes of mortality of dolphins during fishing operations and encourage fishermen to adopt the techniques of fishing which minimize these mortalities, and (4) to study the effects of different modes of fishing on the various fish and other animals of the pelagic ecosystem.

The Commissioners serving at the time of publication are:

COSTA RICA

Jaime Basadre Oreamuno
Alvaro Moreno Gomez
Luis Paris Chaverri

FRANCE

Philippe Peronne

JAPAN

Kenro Iino
Minoru Morimoto
Yamato Ueda

NICARAGUA

Sergio Martínez Casco

La Comisión Interamericana del Atún Tropical funciona bajo la autoridad y dirección de un convenio establecido originalmente por Costa Rica y los Estados Unidos. El convenio, vigente desde 1950, está abierto a la afiliación de otros gobiernos cuyos ciudadanos pescan atunes en el Océano Pacífico oriental. Bajo esta estipulación, Panamá se afilió en 1953, Ecuador en 1961, México en 1964, Canadá en 1968, Japón en 1970, Francia y Nicaragua en 1973, Vanuatu en 1990, y Venezuela en 1991. Ecuador se retiró de la Comisión en 1968, México en 1978, y Canadá en 1984.

La CIAT cumple sus obligaciones mediante dos programas, el Programa Atún-Picudo y el Programa Atún-Delfín. Las responsabilidades principales del primero son (1) estudiar la biología de los atunes y especies afines en el Océano Pacífico oriental para estimar las consecuencias de la pesca y los factores naturales sobre su abundancia y (2) recomendar las medidas de conservación apropiadas para que los stocks de peces puedan mantenerse a niveles que permitan capturas máximas sostenibles. Las responsabilidades principales del segundo son (1) controlar la abundancia de los delfines y su mortalidad incidental a la pesca, mediante la toma de datos a bordo de embarcaciones atuneras de cerco que pescan en el Océano Pacífico oriental, (2) analizar esos datos y hacer recomendaciones adecuadas para la conservación de los delfines, (3) estudiar las causas de la mortalidad de delfines durante las faenas de pesca e instar a los pescadores a adoptar aquellas técnicas de pesca que minimicen esa mortalidad, y (4) estudiar los efectos de los distintos modos de pesca sobre las poblaciones de peces y otros animales del ecosistema pelágico.

Los Comisionados actuales son:

PANAMA

José Donoso
Ricardo A. Martáns
Armando Martínez Valdés
José A. Troyano

UNITED STATES OF AMERICA

Barbara H. Britten
M. Austin Forman
James T. McCarthy
Michael F. Tillman

VANUATU

Julian Ala

VENEZUELA

Hugo Alsina Lagos
Roberto Ortisi
Jean-François Pulvenis
Miriam R. de De Venanzi

Director

James Joseph

Headquarters and Main Laboratory—Oficina y Laboratorio Principal

Scripps Institution of Oceanography La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.

Price per copy—\$2.00—Precio del ejemplar

**INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION
COMISION INTERAMERICANA DEL ATUN TROPICAL**

Bulletin—Boletín

Vol. 21, No. 2

**ESTIMATES OF AGE AND GROWTH, AND AN ASSESSMENT OF AGEING
TECHNIQUES, FOR NORTHERN BLUEFIN TUNA,
THUNNUS THYNNUS, IN THE PACIFIC OCEAN**

**ESTIMACIONES DE LA EDAD Y CRECIMIENTO, Y UNA EVALUACION DE
LAS TECNICAS DE DETERMINAR LA EDAD, DEL ATUN ALETA AZUL DEL
NORTE, *THUNNUS THYNNUS*, EN EL OCEANO PACIFICO**

by—por

Terry Foreman

La Jolla, California

1996

CONTENTS—INDICE

ENGLISH VERSION—VERSION EN INGLES

	Page
ABSTRACT	75
INTRODUCTION	75
METHODS AND MATERIALS.....	76
Field study of bluefin in Japan.....	76
Preparation and analysis of OTC-marked hard parts	76
OTC-marked otoliths	76
Scanning electron microscopy study of microincrements.....	77
OTC-marked vertebrae	77
Scales.....	78
Spines	78
Preparation and analysis of hard parts sampled from the catch	78
Sampling the eastern Pacific catch	78
Preparation and reading of hard parts	79
Otoliths.....	79
Vertebrae	79
Scales and spines	79
RESULTS AND DISCUSSION.....	80
Determination of deposition rates in hard parts.....	80
Returns of tagged fish.....	80
Otoliths.....	80
Vertebrae	82
Scales.....	83
Spines	84
Comparison of methods.....	84
Precision.....	84
Comparison of counts between readers	85
Comparison of estimates between otoliths and vertebrae.....	85
Estimates of growth parameters from vertebral age.....	85
CONCLUSIONS	86
Otoliths.....	86
Vertebrae	86
Scales.....	86
Spines	86
ACKNOWLEDGEMENTS.....	87
<hr/>	
FIGURES—FIGURAS	88
<hr/>	
TABLES—TABLAS	96

INDICE—CONTENTS

VERSION EN ESPAÑOL—SPANISH VERSION

	Página
RESUMEN	106
INTRODUCCION.....	106
METODOS Y MATERIALES	107
Estudio de campo del aleta azul en el Japón	107
Preparación y análisis de partes duras marcadas con OTC	108
Otolitos marcados con OTC.....	108
Estudios del los microincrementos con microscopía electrónica de barrida.....	108
Vértebras marcadas con OTC.....	109
Escamas.....	109
Espinas	109
Preparación y análisis de partes duras tomadas de la captura	110
Muestreo de la captura del Pacífico oriental	110
Preparación y lectura de partes duras	110
Otolitos.....	110
Vértebras.....	111
Escamas y espinas	111
RESULTADOS Y DISCUSION.....	111
Determinación de tasas de deposición de marcas en las partes duras.....	111
Devoluciones de peces marcados	111
Otolitos.....	112
Vértebras.....	114
Escamas.....	115
Espinas	116
Comparación de métodos	116
Precisión.....	116
Comparación de conteos entre lectores.....	117
Comparación de estimaciones de edad basadas en otolitos y vértebras	117
Estimaciones de parámetros de crecimiento basadas en vértebras	117
CONCLUSIONES.....	118
Otolitos.....	118
Vértebras.....	118
Escamas.....	119
Espinas	119
RECONOCIMIENTOS.....	119
<hr/>	
LITERATURE CITED—LITERATURA CITADA	120

ESTIMATES OF AGE AND GROWTH, AND AN ASSESSMENT OF AGEING TECHNIQUES, FOR NORTHERN BLUEFIN TUNA, *THUNNUS THYNNUS*, IN THE PACIFIC OCEAN

by

Terry J. Foreman¹

ABSTRACT

A tagging and oxytetracycline hydrochloride (OTC)-marking experiment conducted in the Pacific Ocean demonstrated that bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, deposit daily microincrements in the otoliths and annual increments in the 35th vertebra, at least in young fish. Ages of older fish are probably underestimated by counting microincrements. Scales and dorsal spines failed to show OTC marks. Estimates of growth rate were made from tagging, and age estimates were made from vertebrae sampled from the eastern Pacific catch. The use of vertebrae appears the best choice for routine ageing, based on precision, accuracy, and practicality of method.

INTRODUCTION

The northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, occurs in the Atlantic Ocean, including the Gulf of Mexico, the Mediterranean Sea, and the Baltic Sea, and in the Pacific Ocean, including the East China Sea and the Sea of Japan (Gibbs and Collette 1967, Bayliff 1980, Calkins 1982, Collette and Nauen 1983, Cort 1990). Gibbs and Collette (1967) recognize two subspecies, *T. thynnus thynnus* (Linnaeus) in the north Atlantic and *T. thynnus orientalis* (Temminck and Schlegel) in the north Pacific. Both subspecies are trans-oceanic migrators (Clay 1991, Bayliff 1993). Bluefin are the object of intense commercial and recreational fishing in many countries. In recent years, catches in both the Atlantic and Pacific have decreased, making stock assessment a critical matter (Hanan 1983, Magnuson *et al.* 1994).

The age and growth of bluefin tuna from the Pacific Ocean have been estimated from analysis of data on the release and recovery of tagged individuals (Koski 1967, Bayliff *et al.* 1991), length frequencies (Yokota *et al.* 1961, Koski 1967, Bayliff 1993), and marks on hard parts (Aikawa and Kato 1938, Bell 1963, Koski 1967, Yukinawa and Yabuta 1967, Schultze and Collins 1977). Estimates of the age and growth of bluefin of the Atlantic Ocean have been made (Cort 1990), but these may not apply to the Pacific Ocean, since bluefin from the Atlantic are likely genetically isolated from, and attain greater sizes than, those of the Pacific.

Estimates from tagging data of the growth of bluefin between about 20 and 150 cm in length in the Pacific Ocean were made by Bayliff *et al.* (1991). These estimates are useful for evaluating estimates made by other methods, but it would be prohibitively expensive to study the growth of large fish and the annual variation in growth of fish of any size from tagging data. Series of monthly length-frequency polygons for bluefin caught between 1973 and 1980 in the eastern Pacific (Calkins 1982) show a considerable overlap in the lengths of fish that appear to belong to different age groups, so it can be difficult to estimate the age and growth from length frequencies (Bayliff and Calkins 1979). Bayliff (1993), however, concluded that in many cases it is possible to separate younger bluefin of different ages caught in the eastern Pacific Ocean by examination of length-frequency data, and used data from 1952–1991 to estimate growth rates and assign fish to year classes.

Estimates of the age of bluefin tuna from the eastern Pacific Ocean can be best made from the hard parts, provided the deposition rate of natural marks is known. The deposition rate can be estimated by marking the hard parts of bluefin tuna with a fluorochrome, such as oxytetracycline hydrochloride (OTC), which binds to free calcium in the plasma and is deposited at the growth sites in

¹Current address: California Department of Fish and Game, P.O. Box 852, Ramona, California 92065, USA

the hard parts, thereby creating an artificial mark on the hard part. The fish is then tagged and released. Later, if the tagged fish is recaptured, its hard parts are removed and examined under ultraviolet light for a yellow-green fluorescent mark indicative of the presence of the OTC. The number of natural increments between the artificial mark and the edge of the hard part is compared to the time the fish was at liberty between tagging and recapture, thereby determining the deposition rate of the natural mark for that fish.

In this report, data on the numbers of increments on the otoliths and vertebrae of bluefin tuna distal to marks created by injection of OTC are used to determine the periodicity of increments formed on the hard part. The speed and accuracy of age determination from the hard parts of bluefin tuna from the Pacific Ocean are evaluated and estimates of the growth rate are presented. Growth rates are estimated from age data generated from analysis of vertebrae and from tagging experiments.

METHODS AND MATERIALS

This study has two distinct parts. A field-marking study, conducted in Japan, consisted of tagging, injection with OTC, and release of young-of-the-year bluefin which were subsequently recaptured in the commercial fisheries off Japan and North America. Hard parts were then analyzed using the methodology discussed by Wild and Foreman (1980). The second part of the study was performed on bluefin captured off North America. It consisted of systematically sampling the commercial catch for hard parts, from which the precision of age estimates was determined and growth rates were estimated.

Field study of bluefin in Japan

The hard parts of bluefin tuna were marked with OTC, using a method similar to that described by Wild and Foreman (1980). During July-September 1981, 880 bluefin tuna 19 to 26 cm in length were tagged from small trollers off Kochi, Shikoku Island, Japan. (All measurements of fish in this report were made from the tip of the snout to the fork of the tail.) Each fish was measured to the nearest centimeter on a specially-designed cradle and tagged below the second dorsal fin with an individually-numbered 9-cm vinyl dart tag. A 1-cc Becton-Dickinson disposable syringe with a 25-gauge, $\frac{5}{8}$ -in. (16-mm) needle was used to inject 0.1 cc of 100 mg.ml⁻¹ OTC, a dosage of approximately 33 mg.kg⁻¹. All fish were processed in 30 sec or less between capture and release. As an experimental control to determine whether injection had an effect on survival or growth, an additional 344 fish were tagged and released, but not injected. The fish were recovered after recapture by commercial fishermen, who provided information on the locations and dates of recapture. The number of days at liberty was determined by counting the date of tagging, and any subsequent days, up to and including the day of recapture.

Preparation and analysis of OTC-marked hard parts

OTC-marked otoliths

The sagittae (the largest of the three pairs of otoliths) from OTC-marked bluefin tuna were cleaned in sodium hypochlorite solution (laundry bleach) using a nylon artist's brush and forceps, rinsed in distilled water, and stored dry in darkness to prevent photolysis of the mark (Weber and Ridgway 1967). (Henceforth in this report, to conform to the terminology of most of the literature on this subject, the sagittae will be referred to as "otoliths.") The yellow-green fluorescent mark was located under magnification, utilizing ultraviolet light from a 200-watt mercury burner. Excitation wavelength was limited by a combination of BG-12 and B(500-nm) filters, and autofluorescence was reduced by a 530-nm barrier filter (Weber and Ridgway 1967, Wild and Foreman 1980).

Wild and Foreman (1980) established that sectioning of tuna otoliths is not necessary to obtain accurate estimates of age. Counts of the microincrements were made from the OTC mark to the rostrum or postrostrum of either otolith, because previous studies with other species, including tunas (Wild and Foreman 1980, Laurs *et al.* 1985), showed no differences in counts obtained from the left and right otoliths. The rostral-postrostral axis on tuna otoliths is known to yield the greatest counts. Otoliths from small fish such as these are fragile, and the rostrum was often broken or lost, so the surface counts were made along the primordium-postrostral axis in most cases.

Counts were made in a depression slide at 480-720x, using immersion oil (nD, 23°C = 1.515) to improve resolution. To further enhance resolution (if necessary), the following sequence of preparatory techniques was used. Direct counts were initially attempted on the distal surface of the postrostrum or, in a few cases, the rostrum. If the microincrements could not be resolved, the otolith was cleaned in xylene and acetone to remove the immersion oil, dried, and placed on Plasticene, a substance similar to modeling clay, with the postrostrum or rostrum elevated and protruding from above the Plasticene. The counting path was then etched under low magnification with 2N hydrochloric acid (HCl) applied with a fine-tipped brush, with care being taken not to etch away the microincrements at the edge. This technique removes surface overburden and exposes the underlying microincrements. Etching was monitored by viewing the otolith under high magnification to ensure that overetching did not occur. When the microincrements were exposed, the whole otolith was immersed in laundry bleach, rinsed in distilled water and then in acetone, and air-dried, before immersing it again in oil. The microincrements on each otolith were counted at least five times.

Scanning electron microscopy study of microincrements

The appearance of microincrements and the effect of preparation techniques can vary among fish species. Otoliths from non-OTC-marked bluefin of various lengths from 70 to 151 cm were prepared by different combinations of methods (Haake *et al.* 1982) to gain insight regarding the structural appearance of microincrements, and to determine the method of preparation which would most improve readability of the otoliths. Preparations were made with both the outer surface and sagittal and frontal sections along the rostral-postrostral plane. Otoliths were mounted in Spurr resin, cured overnight at 70°C, and sectioned with an Isomet low-speed diamond saw. The sections were then polished with a series of 400- and 600-grit mylar paper, and then etched with either (1) 7.5 pH glutaraldehyde (GA) in 0.1 mOsM sodium cacodylate buffer for 4 hr, (2) 2% 7.8 pH ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) for 1 min, or (3) 0.5 or 2N HCl until microincrements appeared. Sections were gold-coated and photographed in a Hitachi S500 scanning electron microscope (SEM) at 25 kV at magnifications from 900 to 10,000x.

OTC-marked vertebrae

The 35th caudal vertebra, found by Berry *et al.* (1977) and Lee *et al.* (1983) to have the greatest and most consistent counts, was used in this study. Prince *et al.* (1985) found that in "school tuna" (about 50 to 146 cm in length) counts on the surface of the centrum of the vertebrae were more precise than those from thin sections of the vertebrae. Since this length range approximates that of bluefin caught in the eastern Pacific Ocean, whole vertebrae, rather than sections, were analyzed. Care was taken in separating the vertebrae, because destruction of the cartilaginous edge could affect subsequent measurements. The anterior centrum face was cleansed of the gelatinous substance between the vertebrae, and the vertebra was washed in water and placed anterior side up under a dissecting microscope, where it was examined at 10 to 15x, using a hand-held ultraviolet light source, in darkness. The OTC mark appeared as a bright, yellow-green ring on the centrum face. Radial distances to the mark were estimated by measuring vertical distances between focal planes and lateral distances with a stage micrometer (Figure 1) and subsequent application of the Pythagorean theorem. The vertebrae were

then immersed in alizarin red S stain (Galtsoff 1952) for 1 to 5 hr, depending on size, rinsed in running tap water for 15 to 30 min, and dried overnight in a 60°C oven containing a drying agent. Measurements were made from the focus to any natural marks and to the centrum edge as above. Annuli were characterized by differences in stain absorption and repetitive sets of small ridges and valleys on the centrum face. The dorsal or ventral axis seem to compress annuli, making reading difficult, so the lateral field was used for analysis.

Scales

Because the scales of most tunas, especially juveniles, are relatively small, processing and handling them is difficult. The scales from the three largest OTC-injected fish were examined for OTC marks, prior to staining, under a dissecting microscope, using a hand-held ultraviolet light source, in darkness, at 10 to 15x. No mark was evident, so the scales were pressed between two slides and examined under low power with the same methodology used for OTC-marked otoliths. No mark was found using this method either.

Spines

Spines are also extremely small, especially in fish under 40 cm in length. First dorsal spines from fish collected in Japan, most of which were less than 40 cm long, were placed in plastic bags and frozen. Attached flesh was removed with a scalpel and the spines were attached to wooden blocks with thermoplastic cement. A 0.5- to 1.0-mm section was cut with an Isomet low-speed diamond saw from the base of each spine approximately 5 mm above the lateral condyles, mounted on a glass slide with Flo-tex mounting medium, and allowed to cure. The sections were examined under a dissecting microscope at 15x, using a hand-held ultraviolet light source, in darkness.

Preparation and analysis of hard parts sampled from the catch

Sampling the eastern Pacific catch

Samples of bluefin tuna caught by the purse-seine fleet in the eastern Pacific Ocean in the same area and month, and preferably in single purse-seine sets, were routinely measured at canneries in Terminal Island and San Diego, California, and Ensenada, Mexico. The fish were captured by purse-seine vessels operating between 24°N and 34°N latitude within 120 nautical miles of the coast. During 1980, 1981, and 1982, every fifth fish from a portion of a 50-fish length-frequency sample was subsampled for a series of hard parts (otoliths, scales, and the first dorsal spine) and cataloged with information on area, date of catch, and length. The goal was to obtain adequate representation of all size classes of fish, so during 1981 and 1982 the fish were selected accordingly. Additional samples of otoliths, scales, spines, and vertebrae were collected in 1983 and 1984 to increase the numbers of samples for the size classes which were poorly represented in the previous samples.

The sexes of the sampled fish were not determined. Sexually-dimorphic growth rates in mature tunas have been documented by Caddy *et al.* (1976) and Wild (1986), and in immature blue marlin, *Makaira nigricans* (Wilson *et al.* 1991). For Pacific bluefin, Hirota *et al.* (1976) reported a male bluefin held in captivity matured at three years of age, but Harada (1980) found that spawning in the wild first occurs at about 5 years of age and about 150 cm in length. The estimate of five years agrees with estimates for bluefin from the Atlantic (Clay 1991) and for southern bluefin (Davis 1991). Since the majority of fish used in this study were considerably smaller and younger than that, they are assumed to have been immature. In addition, large, mature bluefin are rarely captured in the eastern Pacific (Foreman and Ishizuka 1990). Therefore no difference between the growth rates of males and females is assumed to exist.

Preparation and reading of hard parts

Otoliths

Otoliths collected from non-injected fish were prepared by etching the dorsal surface in the primordium-postrostrum axis by the method used for the otoliths of OTC-injected fish, described above. However, because these otoliths were from larger fish, the thickness along the counting path made it impossible to read the surface directly due to decreased light transmission and morphological relief interfering with lens travel. Accordingly, a replication technique (Pannella 1971, Wild and Foreman 1980), which involves covering the etched surface with a thin sheet of cellulose acetate, softened in acetone, was employed. The sheet is allowed to harden, peeled off, and flattened on a glass slide under a cover slip. This method eliminates problems of depth of field, and appears to give a true representation of the otolith microstructure.

Microincrements on the replica were counted at least four times from the postrostrum toward the primordium. Measurements of microincrement widths were made with an ocular micrometer.

The comparison of age estimates from daily microincrements on the otoliths and annuli on the vertebrae (see later section on comparison of estimates from otoliths and vertebrae) reveals that estimates from otoliths are less than those from vertebrae for fish estimated to be 4 years or more of age. It was suspected that the narrowest daily microincrements were being missed, as was found to have been the case for large albacore, *Thunnus alalunga* (Lauris *et al.* 1985), so magnification was increased. A replica from a 151-cm fish yielded 530 more microincrements at 2160x than at 1800x (indicated by stars in Figure 8). The greater estimate was more nearly consistent with estimates from vertebrae, but counting at either magnification is so slow as to be impractical for routine age determination.

Vertebrae

Vertebrae of 232 non-injected bluefin sampled from the eastern Pacific catch were prepared by the same techniques used on the injected fish. However, after staining and drying, measurements were made to the nearest 0.1 mm at 10x using a plastic ruler with a tapered end which allowed access to the origin of the centrum.

Scales and spines

Previous studies using scales (Koski 1967, Schultze and Collins 1977) were carried out when the majority of the bluefin caught in the eastern Pacific Ocean were taken by small purse seiners which were unloaded after a few days of fishing. Most of the fish for the present study came from larger vessels which had stored the fish for several weeks or months after catching them, and most of the scales were lost due to abrasion in the fish wells. Scales are preferably collected from the dorsal area between the caudal peduncle and second dorsal fin, but in most cases these scales were missing due to rough handling during storage and unloading, so scales from other areas of the fish were used. Scales from these other areas usually contained oil globules and/or thickened areas which obliterated the growth record at the centers of the scales, rendering them useless for ageing purposes (Koski 1967, Schultze and Collins 1977). Scales from the corselet area (ventral to the first dorsal fin and dorsal to the lateral line) were always unreadable. Because of these problems, many fish were not aged using scales.

Preparation of scales for examination followed the procedures of Bell (1963) and Koski (1967). Scales were stored dry in paper envelopes, and later processed by cleaning in 3% potassium hydroxide for 24 hrs, washing with tap water for 1 hr, fixing with 2% acetic acid for 1 hr, staining with 1% eosin A for 2 hrs, and rinsing in tap water for 1 hr. The stained scales were examined in water in a watch glass at 15x, after which they were mounted between two microscope slides and placed into a scale projector, after which measurements to each annulus were made on the projected images.

The first dorsal spine was collected and kept frozen until analysis. The spines were then processed in the same fashion as the OTC-marked specimens, except that white light transmitted from below was used as illumination.

RESULTS AND DISCUSSION

Determination of deposition rates of marks in hard parts

Returns of tagged fish

The numbers of releases and returns of tagged fish were as follows:

	Released	Returned		Returned with data on date of recapture	
	Number	Number	Percent	Number	Percent
Marked with OTC	880	142	16.1	93	10.6
Not marked with OTC	344	36	10.5	22	6.4

The returns were obtained from troll fishermen who fish off the islands of Shikoku and southern Honshu and by purse-seine fishermen fishing off northern Honshu in an area centered at approximately 41°N-150°E. In addition, one fish was recaptured by a purse-seine vessel off Baja California at approximately 32°N-118°W. A chi-square test ($\chi^2 = 30.20$, d.f. = 1, $p < 0.001$) indicated that the injected fish were returned at a significantly greater rate than the control fish. Weber and Ridgway (1967) also obtained greater return rates for OTC-marked (but not tagged) coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), and attributed this to a difference in survival, probably from prevention of disease by the OTC. In the present study, however, the difference may have been at least partly due to selection of only prime-condition fish for injection during tagging operations. Growth rates for injected and control fish (Table 1) were stratified by days free and compared by a two-way analysis of variance, with length at release as a covariate. No differences between growth rates of injected and control fish were detected.

Only 31 OTC-marked fish were usable for analysis of hard parts (Table 2), because most of the tags from OTC-injected fish were returned without the fish and/or lacked information on the date of recapture. The fish ranged from 23 to 68 cm in length at recapture, with a mean of 42.2 cm.

Otoliths

Microincrements in otoliths (Pannella 1971) have been used in attempts to determine the ages of young-of-the-year (Brothers *et al.* 1983) and older (Radtke 1984) Atlantic bluefin tuna, yellowfin tuna, *Thunnus albacares* (Wild and Foreman 1980, Wild 1986), skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis* (Wild and Foreman 1980, Uchiyama and Struhsaker 1981), and albacore tuna (Laurs *et al.* 1985). Microincrements were found to be formed at daily intervals on the otoliths of bluefin and yellowfin, but skipjack and albacore displayed less than one increment per day on their otoliths. It is now believed that the deviations from the 1:1 ratio for skipjack were due to the increment record for 50- to 62-cm fish being interrupted, rather than to difficulty in interpretation of the microincrements (Wild *et al.* 1995). Results of analysis of tagging data (Bayliff *et al.* 1991) indicate that the growth rate for small fish during the period of the bluefin experiment was rapid compared to that of older bluefin. During rapid growth, structures on the otoliths that appear to be microincrements are much wider than during other life history stages. These form broad arcs that frequently split into subunits along the counting path but coalesce into a single microincrement lateral to the path. Interpretation is therefore difficult.

Because it has been established that microincrements are deposited daily during early growth of Atlantic bluefin (Brothers *et al.* 1983) and other species, e.g. black skipjack, *Euthynnus lineatus* (Wexler 1993), it was tentatively assumed that the same is the case for Pacific bluefin. Accordingly, in order to develop rapidly the criteria for what constitutes an increment, the otoliths of two bluefin which were at liberty for known periods were examined. If rigid application of those criteria to the remaining otoliths produced 1:1 ratios between microincrements and days at liberty, then it may be assumed that the interpretation is consistent among specimens, that the structures defined by the criteria are deposited daily, and that deposition is not interrupted over the length range studied (Table 2). The number of fish in this table is less than the numbers in Tables 1 and 10 because Table 2 includes data only for fish from which otoliths were obtained. The relationship is expressed by

$$I = 10.178 + 0.993D,$$

where I = mean number of microincrements from the OTC mark to the edge of the otolith and D = days free (Figure 2). The slope of the line is not significantly different from 1 ($t = 1.25$, d.f. = 29, $p > 0.05$), nor is the intercept significantly different from 0 ($t = 20.22$, d.f. = 29, $p > 0.05$). The 95% confidence interval around the regression coefficient is 0.986–1.000. The results suggest that bluefin tuna of this length range (19 to 68 cm) produce microincrements at daily intervals, and that the criteria adopted for identifying these microincrements are valid.

Counts of the total numbers of microincrements, from the primordium to the tip of the postrostrum, were made on otoliths collected mostly from non-injected fish caught in the eastern Pacific Ocean to estimate their ages and to compare these estimates to those made from other hard parts. The findings of the SEM study of otolith morphology were used to develop criteria such that the effects of morphology which increase counting bias and decrease accuracy were minimized. These findings were as follows:

1. HCl is a harsh etching agent (Figure 3), but it is better for surface etching than either GA or EDTA because microincrements are more easily discernible when HCl is used.
2. Areas which appear to contain no microincrements (Figure 4) in fact do contain them, and their number should be interpolated from surrounding areas.
3. Occlusion of microincrements occurs (Figure 5), and should be accounted for when recognized. This may be impossible in sectional views, but may be possible in surface preparations if they are scanned laterally.
4. Subdaily microincrements are present (Figure 6), but these can be distinguished from daily microincrements because they are not as well defined as the daily increments.

Utilizing these findings, and experience from the deposition rate experiment, the otoliths of a subsample of 15 fish, ranging from 20 to 159 cm in length, were replicated, and the microincrements were counted (Table 3). Birth months were estimated from date of capture and estimates of age obtained from counts of the daily microincrements. Spawning has previously been determined to occur between Taiwan and Kyushu, usually in May and June, and offshore off southern Honshu in July (Yabe *et al.* 1966), and also in the Sea of Japan in August (Okiyama 1974; Nishikawa *et al.* 1985). Spawning during late summer is also evident from the presence of juvenile (22- to 26-cm) bluefin near Himi on the coast of the Sea of Japan during October–December (Morita 1984). The age estimates (Table 3) obtained from counts of daily microincrements on the otoliths indicate that spawning of these fish occurred mostly between March and August, which coincides with larval occurrences. It may be significant that all but one of the fish in the sample were captured in the eastern Pacific. Migration to the eastern Pacific may be more likely for fish hatched later in the year, which could bias the estimated distribution of birth dates for all fish combined.

To investigate the possibility that narrow microincrements were causing low counts, widths of microincrements from large bluefin tuna were compared to resolution limits from previous

studies. Microincrements smaller than 0.8 mm are not discernible by video-enhanced light microscopy in sections of sardine (*Sardinops sagax*) otoliths (John L. Butler, U.S. National Marine Fisheries Service, La Jolla, CA, pers. comm.). Although quite variable, microincrements from 5- to 6-year-old bluefin appear to be about 1 μm wide, which approaches the practical limits of resolution for the microscope employed. Using an SEM, Radtke (1984) found microincrements as narrow as 0.3 μm distal to the 10th annulus of otoliths of Atlantic bluefin. Otoliths from larger fish in this study seem to be morphologically similar to otoliths analyzed by Radtke (1984), and to be difficult to interpret. The ageing of a large (120-cm) albacore also required the use of an SEM because the microincrements were too small to be read from a replica (Alex Wild, Inter-American Tropical Tuna Commission, La Jolla, CA, pers. comm.). The use of scanning electron microscopy is probably impractical at present, as Radtke (1984) concluded. Narrow microincrements probably do not replicate as well as do wider ones. Wild (1986), however, was able to read replicas of otoliths from yellowfin tuna up to 167 cm in length and 4.8 years of age with a light microscope.

Vertebrae

The relationship

$$L = 3.73 + 6.35VR,$$

where L = length of fish in centimeters and VR = radius of vertebra in millimeters, was fitted to the data for the lengths (Table 2) and vertebral radii of the 31 fish marked with OTC. This relationship can be used to estimate the lengths of the fish at annulus formation.

The last four fish in Table 2 were recaptured in 1982. Each had single annulus which had apparently formed during the winter of 1981-1982 (Figure 7). Estimates of the lengths at annulus formation (Table 4) for these fish were calculated with the equation

$$L_{ann} = \frac{r_1}{r_{edge}} (DL - a) + a + L_{release},$$

where L_{ann} = length in centimeters of the fish at annulus formation, r_1 = distance in millimeters from the OTC mark to the annulus, r_{edge} = distance in millimeters from the OTC mark to the edge of the vertebra, DL = growth in length in millimeters between tagging and recapture, $a = 3.73$ (y intercept of length-vertebral radius equation for the OTC fish), and $L_{release}$ = length in centimeters at release. The mean length of the four OTC-injected bluefin at the time of formation of the first annulus was 41 cm. The mean length of the OTC-injected bluefin recaptured during December (without annuli) was 40.8 cm. Dates of annulus formation were estimated from a linear regression of days free on distance from the OTC mark to the edge of the vertebra. The resulting relationship

$$D = 191.0 + 59.3V,$$

where D = days free and V = distance from the OTC mark to the edge of the vertebra, was used to estimate the number of days after tagging that the annulus formed. The data in Table 3 and Figure 7 indicate that annuli were formed on the vertebrae of the OTC-marked fish between the end of January and the middle of March (mean about February 17).

Personnel from the Far Seas Fisheries Research Laboratory (now the National Research Institute of Far Seas Fisheries) of Shimizu, Japan, and the IATTC tagged bluefin off Japan between 1980 and 1985. Vertebrae from a portion of these fish recaptured in the eastern Pacific Ocean were analyzed to determine whether the estimates of the numbers of annuli formed agreed with those obtained from the four OTC-marked fish recaptured in the eastern Pacific from which vertebrae were obtained. Bluefin tagged off southern Kyushu in January-April 1980 were in the process of forming an annulus. Because

these fish were recaptured about 18 months later, one would expect the first annulus, plus one formed in the winter of the second year, for a total of two. The recapture data (Table 5) support this hypothesis, which confirms the finding from the OTC-marked fish that bluefin form one annulus per year.

Although only one annulus is formed each year, a bluefin with one annulus could be between about 6 months and 1 year old, assuming the fish was spawned as late as August and annulus formation was in February. A newly-formed annulus may not be detected. However, a fish caught in winter with a wide margin outside the distal annulus can be assumed to be nearly ready to form another one, and one with a narrow margin outside the distal annulus can be assumed to have just formed that annulus.

Vertebrae from 232 non-injected bluefin sampled from the eastern Pacific catch were processed, and distance from the focus to each annulus was measured, in order to estimate the lengths of the fish at annulus formation (Smith 1983). Because a plot (Figure 9) of length of the fish on vertebral radius showed an increase in variance with increasing radius, a linear regression model weighted by the inverse of the variance was fitted to the data, with the resultant equation

$$L = 64.1 + 62.8VR,$$

where L = length of fish in millimeters and VR = vertebral radius in millimeters. The standard deviations of the y intercept and the slope are 9.7 and 0.9, respectively. Variation in body:hard part relationships may be due to within-cohort variation (differences in growth of individual fish), between-cohort variation (differences of abundance of food, *etc.*), or both. Directional growth in vertebrae may be affected by seasonality, *i.e.* the older fish in a cohort may have a different body:hard part relationship than younger fish because particular sizes of fish occur at different times during the growing season. Lengths at annulus formation for 232 fish were estimated from vertebral radii to the last annulus formed (Tables 6 and 7). The length-frequency modes of fish of different ages overlap considerably, but this may be due to the fish being sampled over a period of 6 months, rather than at the same time of the year.

Scales

No OTC marks were found in scales when observed under the same conditions as the otoliths and vertebrae. Therefore, no independent estimation of deposition rate is made. The failure of OTC marks to appear on the scales of bluefin tuna was unexpected, because the scales of other species of fish have been successfully marked with OTC (Weber and Ridgway 1967).

Criteria for identification of annuli were based on descriptions by Koski (1967) and Bagenal and Tesch (1978). Annuli on the scales of bluefin tuna were identified by "cutting over" of circuli on the lateral field of the scale and crowding together of circuli on the posterior field. False annuli are formed on the edges of a thickened center, and appear as dark lines (Koski 1967). Regenerated scales were easily identified by large voids in their centers. Koski (1967) assumed that annuli were formed on the scales between January and June, and used the midpoint (April 1) as the date at which the fish increased their ages by one year. Yukinawa and Yabuta (1967), who conducted marginal increment analysis of the scales, estimated that the annulus forms in April at a length of about 52 cm. However, because annuli must be far enough from the edge to be discernible, marginal increment analysis may produce an estimated date of annulus formation which is later than the actual date.

Sampling of scales from 130 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean in 1980 produced readable scales from 95 fish. The body:scale relationship was weak and non-significant ($r^2 = 0.01$), probably because many of the scales were taken from areas other than the preferred area. Accordingly, no attempt was made to estimate the lengths of the fish at the times of formation of the annuli. The length frequencies of fish of different ages overlap considerably (Table 8), as was found to be the case by Schultze and Collins (1977). This is due at least partially to sampling over a period of several months,

rather than during a shorter period, and to variation in the growth of individual fish, but it is also possible that the annuli are not formed annually. Age estimates from scales appear less reliable than those from otoliths or vertebrae.

Spines

No OTC marks were found in spines when these were observed under the same conditions as the otoliths and vertebrae. The marks on the spines may have been obliterated by resorption of the center of the spine, in the same way as the early growth record (see below). As with scales, the lack of a validated deposition rate makes ageing, and hence estimates of growth rates derived by this method, less reliable.

The first dorsal spine from each of 150 bluefin tuna caught in the eastern Pacific Ocean in 1980 was examined for natural marks. Compeán-Jiménez and Bard (1983) found that bluefin in the Atlantic deposit two marks per year; and Hedgepeth and Jolley (1983) showed that other large pelagic fish, including scombrids, also exhibit multiple banding. Compeán-Jiménez and Bard (1983) showed that marks near the center of the spine were obliterated by vascularization as the fish get older, which seems to be true for bluefin from the Pacific Ocean as well. Obliteration of marks in dorsal spines was also reported in sailfish, *Istiophorus platypterus* (Prince et al. 1986), skipjack (Antoine et al. 1983), and little tunny, *Euthynnus alletteratus* (Cayré and Diouf 1983). The spines may participate in the total calcium metabolism of the fish (Simkiss 1974), because the growth record in older fish is not continuous, after what appears to be a continuous record is deposited in younger fish. Compeán-Jiménez and Bard (1983) estimated the ages of older fish from their ring diameters, using data on the diameters of large and medium rings of older fish and small and medium rings of younger fish. Using a similar procedure, and assuming that a double mark is formed each year, the ages of 143 fish caught in the eastern Pacific Ocean were estimated (Table 8). Because no deposition rate was firmly established from the OTC experiment, these estimates are only tentative.

Comparison of methods

Precision and bias in age estimates are important, because they affect the estimates of the parameters of growth which, in turn, determine the results of stock assessment. Powers (1983) performed a Monte Carlo simulation to estimate mortality and growth parameters of the von Bertalanffy equation as a function of age, which was measured with varying degrees of random and systematic error, with the parameters chosen to mimic the growth of large pelagic fish such as bluefin tuna. The simulation demonstrated that random errors in ageing produced biased estimates of K and L_{∞} (parameters of the von Bertalanffy growth equation), especially with small to medium sample sizes. He stated that the bias in age determination should be less than 10%, because anything greater than 10% is "probably not worthwhile if the technique makes it difficult to produce large aged samples." When precision reaches an acceptable level, effort should be focused upon decreasing processing time so that the sample size can be increased. With this in mind, the various methods for estimating the ages of the fish from hard parts were compared for practicality and precision.

Precision

Estimation of the precision of a method, that is, the reproducibility of the results, was addressed by Beamish and Fournier (1981) and Chang (1982). In both cases the coefficient of variation (standard deviation/mean) replaces average percent error, and

$$D = CV \times (\sqrt{R})^{-1}$$

where D = index of precision, CV = coefficient of variation, and R = number of times each fish was aged. The estimates of CV and D for the various hard parts are given in Table 9.

In a previous report assessing precision of counts of "internal zonations" or "bands" on vertebrae of bluefin, Prince *et al.* (1985) attained a higher degree of precision (mean $CV = 0.004$ and mean $D = 0.0154$ for two readers, compared to means of 0.0636 and 0.0212, respectively, for the present study) for whole vertebrae counts of similar-sized Atlantic bluefin.

Comparison of counts between readers

Although the index of precision measures repeatability of data produced by a single reader, a second reading, preferably by an experienced person, lessens the chance of undetected bias. Analysis of a set of 25 age estimates from vertebrae by the author of this report and another experienced reader demonstrated a high correlation between readers for fish 0 to 7 years of age (Spearman's rank correlation test ($r_s = 0.927$, d.f. = 25, $p < 0.001$). Additionally, repeated counts for all ages were not significantly different (paired-sample t test (Zar 1974) ($t = 0.484$, d.f. = 15, $p > 0.05$)).

Comparison of age estimates from otoliths and vertebrae

A comparison of age estimates from otoliths and vertebrae from the same individual fish, using a paired-sample t test, indicated no difference between estimates ($t = 0.201$, d.f. = 14, $p > 0.05$) for 15 fish estimated to be 0 to 7 years old. However, recognizing the small sample size and the trend toward underestimation by otolith analysis (Figure 8), estimates from otoliths of fish older than about 4 years should be viewed with caution.

Estimates of growth parameters obtained from vertebrae

Growth rates for bluefin in the eastern Pacific were estimated from analysis of tagging data, length-frequency data, and number of annuli on vertebrae (Tables 10, 11, and 12). Tagged, non-OTC marked bluefin released and recaptured during their first year of life grew at mean rates of 5.6 to 10.6 cm per month (Table 10). Bayliff *et al.* (1991) estimated the growth of fish greater than about 564 mm in length to be 0.709 mm per day or 2.13 cm per month. Koski (1967) and Bayliff (1993) studied length-frequency data for bluefin tuna caught in the eastern Pacific Ocean during 1963-1965, and during most years of the 1952-1991 period, respectively. Both found the growth to be more rapid during the summer than during the winter. Koski estimated the summer growth rate to be about 3.25 cm per month, and Bayliff estimated it to be 3.67, 3.22, and 3.50 cm per month for age-1, age-2, and age-3 fish, respectively. Data for the lengths at which major modes occurred during 1981, 1982, and 1983 are shown in Table 11. These data indicate that the average summer growth rate during 1981, 1982, and 1983 was 3.11 cm per month, which approximates the estimates of Koski (1967) and Bayliff (1993). Koski indicated that the annual growth rate is about 1.73 cm per month or 20.8 cm per year, while Bayliff obtained an estimate of 0.677 mm per day, equivalent to 2.03 cm per month or 24.7 cm per year.

The Lee method (Carlander 1981) of back estimation of lengths of the fish from vertebral radii was used to estimate lengths at annulus formation for 232 fish caught in the eastern Pacific Ocean (Figure 10). The mean growth rates for various intervals are shown in Table 12. A lack-of-fit analysis (Draper and Smith 1966) indicated that a linear model is not appropriate ($F = 1.88$, d.f. = 178, 53, $p < 0.01$) for characterization of the data. A computer program for fitting the von Bertalanffy, Gompertz, and several forms of the Richards function (subroutine written for BMDPAR (Dixon 1981), a derivative-free, non-linear, least-squares regression program) was run with the data. The sums of squares were roughly the same for the Gompertz and Richards functions, but much greater for the von Bertalanffy function. The Gompertz model was tentatively selected as the most realistic, because it is inadvisable to use a model with more parameters when the relationship is unstable with a model with fewer parameters. Sensitivity analyses were then performed in which K was fixed and the sums of squares of the deviations from the expected values for different values of L_∞ were calculated, and L_∞ was fixed and the sums of

squares of the deviations from the expected values were calculated for different values of K . The sums of squares were then divided by the minimum sums of squares to produce quotients for the various combinations of K and L_∞ . Wide ranges of pairs of values of K and L_∞ produced sums of squares which were nearly equal (Figure 11), indicating that the estimates of these parameters are inadequately determined by this method. This is probably caused by a shortage of data for older fish. The estimates of L_∞ greatly exceed any maximum recorded length of bluefin, probably because the samples on which the curve was fit were based on relatively young, fast-growing fish from the portion of the curve below the true inflection point, t^* . Because K is autocorrelated with, and sensitive to, changes in L_∞ , the curve would cause bias in an age-structured stock assessment model, especially for age classes older than those sampled in this study. According to Powers (1983), these biases are consistent in direction for K , but not for L_∞ . For these reasons, the model parameters are not listed, nor are they compared to those obtained in other studies.

CONCLUSIONS

Bluefin cannot be aged both quickly and accurately with any of the hard parts studied. Analysis of vertebrae provide the best combination of speed, precision, and accuracy for routine use. Otoliths can be used when a highly-accurate estimate of age of young fish is desired, but analysis is too tedious and estimates are probably inaccurate for fish older than 4 years.

Otoliths

Otoliths have not been previously used to age bluefin from the Pacific Ocean. Age estimates of bluefin obtained from counting daily microincrements on otoliths using acetate replicas and light microscopy are accurate up to the age of about 4 years. Ages of older fish may be underestimated, however, because the microincrements are too narrow to count using this technique. Annuli are difficult to identify in fish less than 9 years old (Hurley and Iles 1983, Lee *et al.* 1983). It is extremely time-consuming to collect, prepare, and read otoliths, so it would not be practical to use otoliths for routine determination of the age composition of the catch. However, daily microincrements are useful for verification of estimates derived from examination of other hard parts. This method would probably be excellent for ageing postlarval and juvenile bluefin.

Vertebrae

Vertebrae have not been previously used to age eastern Pacific bluefin. It is easy to count the annuli on vertebrae and to measure the distances between the annuli and the focus. As determined by the index of precision, readings by different persons usually agree.

Scales

The OTC experiment failed to establish marks on the scales for determination of deposition rate. Therefore, their use is tentative. Scales can be collected, processed, and read fairly quickly, making them useful for routine determination of the age composition of the catch (Schultze and Collins 1977). Scales from many areas of the body of the fish are unreadable, however. Also, fish stored in the brine wells of fishing vessels for extended periods of time tend to lose their scales. The poor body:scale relationship prevents back estimation of length at age. The coefficient of variation and index of precision of age estimates from scales were both considerably greater than the corresponding values for vertebrae.

Spines

Resorption or vascularization of the center of the spine obliterates the early growth record, rendering this method nearly useless for the routine independent estimation of the ages of bluefin.

ACKNOWLEDGMENTS

I thank Alex Wild, William H. Bayliff, and Patrick K. Tomlinson of the IATTC staff for their valuable assistance and insights on this project. The paper was reviewed by Richard B. Deriso, Kurt M. Schaefer, Eric D. Forsbergh, and Nicholas J. Webb of the IATTC staff, Eric D. Prince of the U.S. National Marine Fisheries Service (NMFS), Gregor M. Caillett of the Moss Landing Marine Laboratory, and Charles A. Wilson of the Center for Coastal, Energy, and Environmental Resources, Louisiana State University. Norman W. Bartoo and Nancy C. H. Lo of the NMFS, and David A. Farris and Thomas A. Ebert of San Diego State University assisted in various ways, and their help is greatly appreciated. I thank Robert N. Nishimoto and Dennis W. Lee of NMFS and Shayne MacLellan of the Pacific Biological Station, Nanaimo, B.C., Canada, for help in verification of counts. The help of the IATTC staff, especially Nannette Clark, the late Kenneth R. Feng, the late Suechi Oshita, Kurt M. Schaefer, and Vaughn M. Silva, in collection of samples, and Edward H. Everett, James N. Ianelli, and Vernon P. Scholey for conducting tagging operations in Japan is gratefully acknowledged. The cooperation of the numerous captains, vessel owners, and cannery employees who allowed us to sample the fish is also acknowledged.

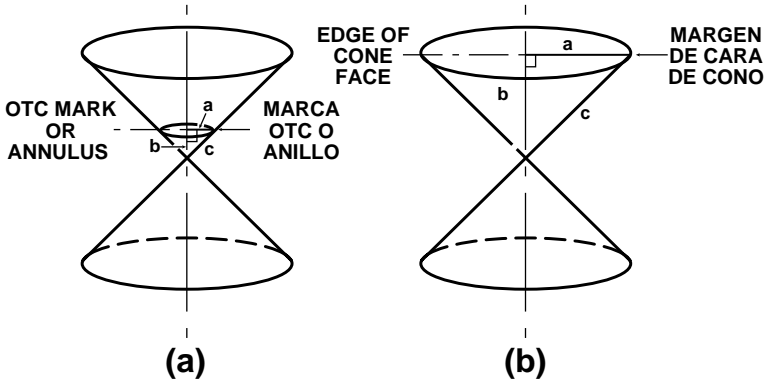


FIGURE 1. Measurements taken from OTC-marked vertebrae and used for back-estimation of the lengths of bluefin at the times of formation of the annuli.

FIGURA 1. Mediciones tomadas de vértebras marcadas con OTC y usadas para la retroestimación de la talla de aletas azules en el momento de formación de los anillos.

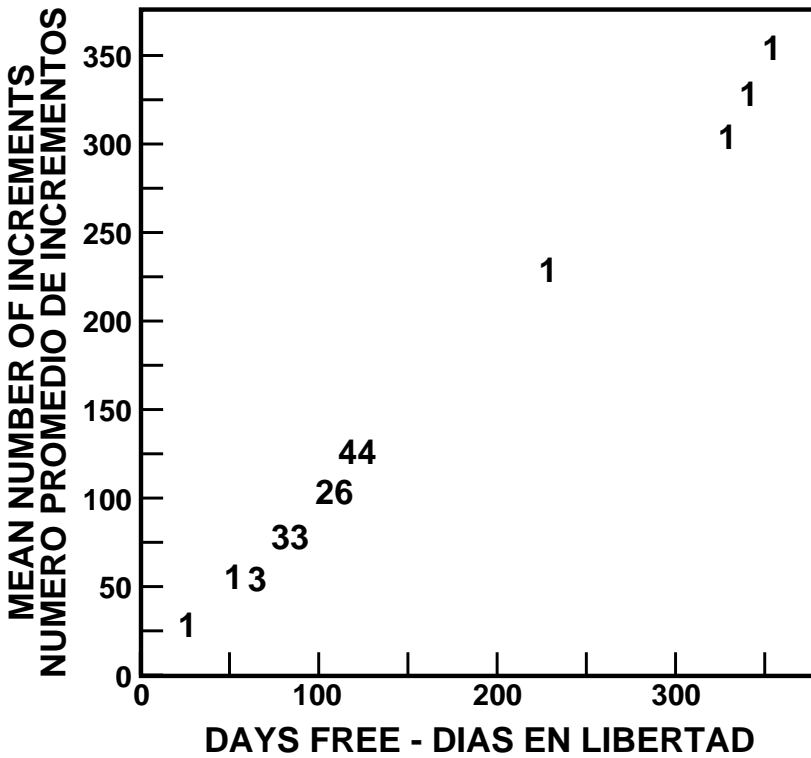


FIGURE 2. Relationship of mean number of otolith increments from OTC mark to distal edge of otolith to days free for 31 tagged bluefin. The numbers represent the numbers of fish.

FIGURA 2. Relación entre el número medio de incrementos en los otolitos desde la marca de OTC hasta el borde distal del otolito y días en libertad para 31 aletas azules marcados. Las cifras representan el número de peces.

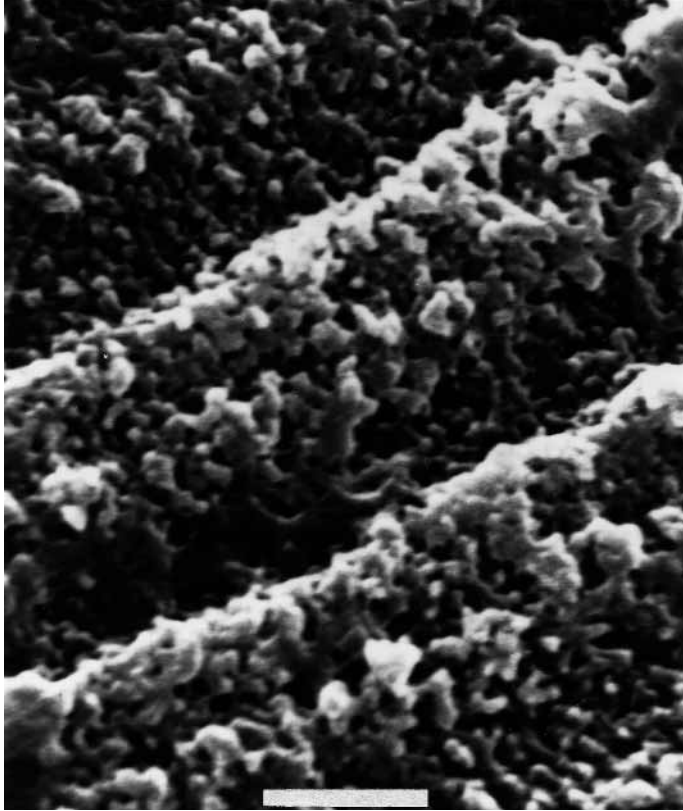


FIGURE 3. Otolith from a 70-cm bluefin, showing the effect of heavy etching with hydrochloric acid on the crystal structure. The length of the bar at the lower edge is 2.5 μm .

FIGURA 3. Otolito de un aleta azul de 70 cm, ilustrando el efecto de una grabación fuerte con ácido clorhídrico sobre la estructura cristalina. La barra en el borde inferior mide 2,5 μm .

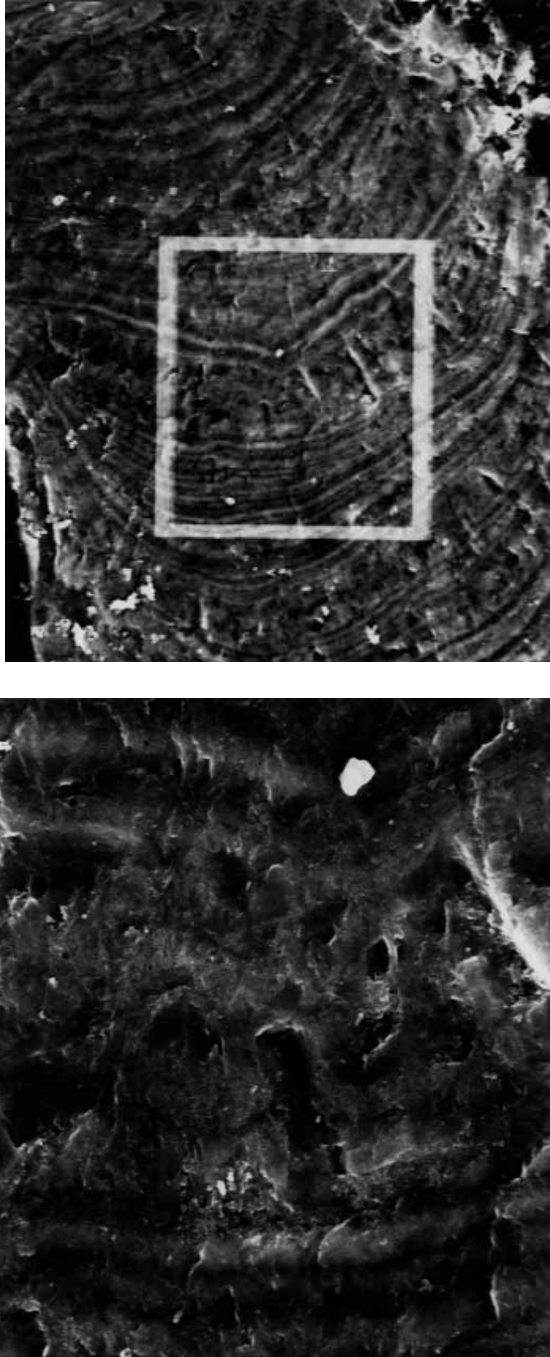


FIGURE 4. Otolith from a 151-cm bluefin, showing the effect of etching with glutaraldehyde. Note the poorly-defined increments within the box. The length of the bar at the lower edge is 20 μm .

FIGURA 4. Otolito de un aleta azul de 151 cm, ilustrando el efecto de grabación con glutaraldehida. Nótese los incrementos mal definidos en la casilla. La barra en el borde inferior mide 20 μm .

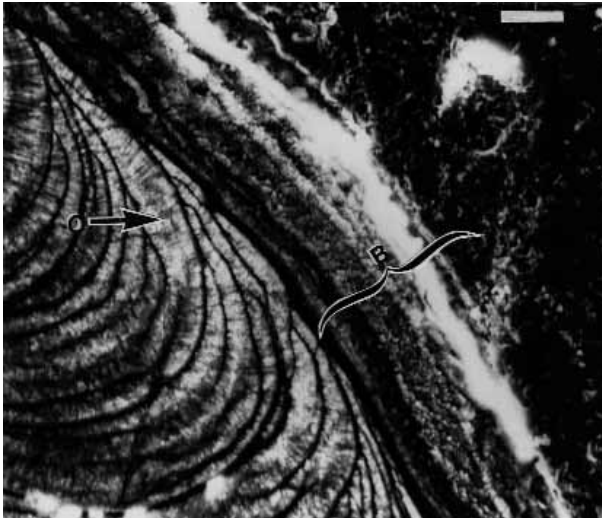


FIGURE 5. Hydrochloric acid-etched section through an area of wide increments formed during early growth. The heavy overburden (B) and the occlusion (O) of increments as they approach the interface with the overburden mask the increments. Surface etching is required to expose the increments for replication. The length of the bar at the upper edge is 10 μm .

FIGURA 5. Sección, grabada con ácido clorhídrico, a través de un área de incrementos anchos formados durante el crecimiento temprano. La sobrecarga gruesa (B) y la oclusión (O) de los incrementos más cercanos al interfaz con la sobrecarga ocultan los incrementos. Es necesario grabar la superficie para exponer los incrementos para la replicación. La barra en el borde superior mide 10 μm .

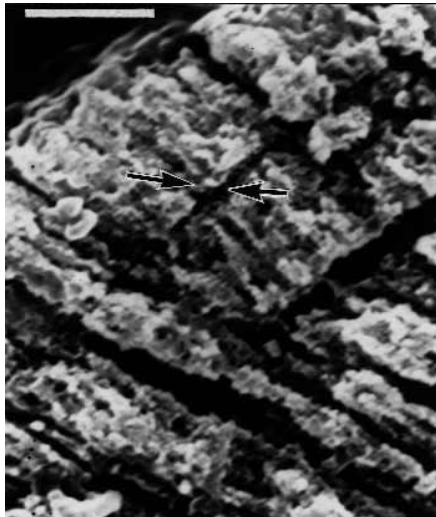


FIGURE 6. Sagittal section through the plane of maximum growth near the primordium of an otolith, revealing a subdaily increment (arrows). The length of the bar at the upper edge is 2.5 μm .

FIGURA 6. Sección sagital a través del plano de crecimiento máximo cerca del primordio de un otolito, exponiendo un incremento subdiario (flechas). La barra en el borde superior mide 2,5 μm .

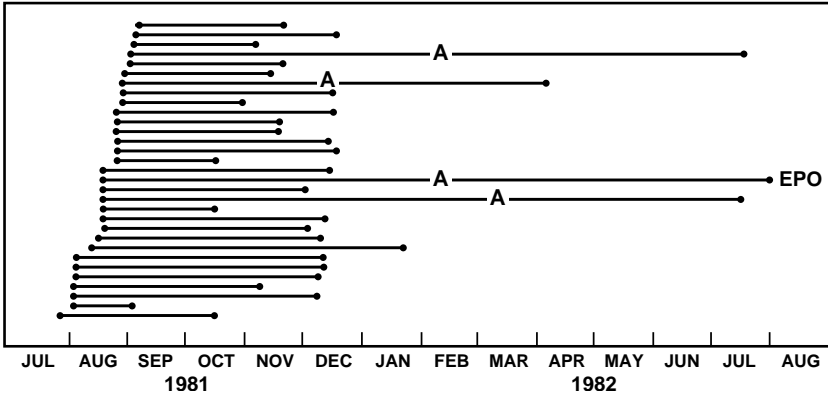


FIGURE 7. Release and recapture dates for 31 OTC-injected bluefin. The times at annulus formation are marked with A. EPO designates a fish which was recaptured in the eastern Pacific Ocean.
FIGURA 7. Fechas de liberación y recaptura correspondientes a 31 aletas azules marcadas con OTC. Las fechas en el momento de formación del anillo están marcadas con A. EPO señala un pescado recapturado en el Océano Pacífico oriental.

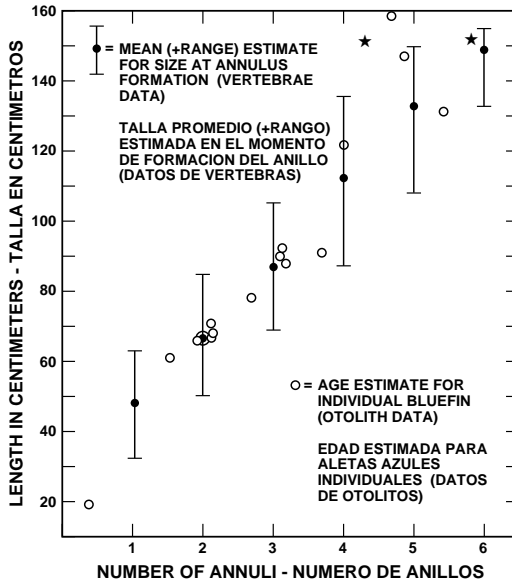


FIGURE 8. Relationship of the back-estimated length to the numbers of annuli on the vertebrae, and to the number of increments on the otoliths divided by 365, for 232 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean. The stars represent counts of the increments on the same otolith at two different magnifications.
FIGURA 8. Relación entre talla retroestimada y número de anillos en las vértebras, y número de incrementos en los otolitos dividido por 365, correspondiente a 232 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental. Las estrellas representan conteos de los incrementos en el mismo otolito con dos ampliificaciones diferentes.

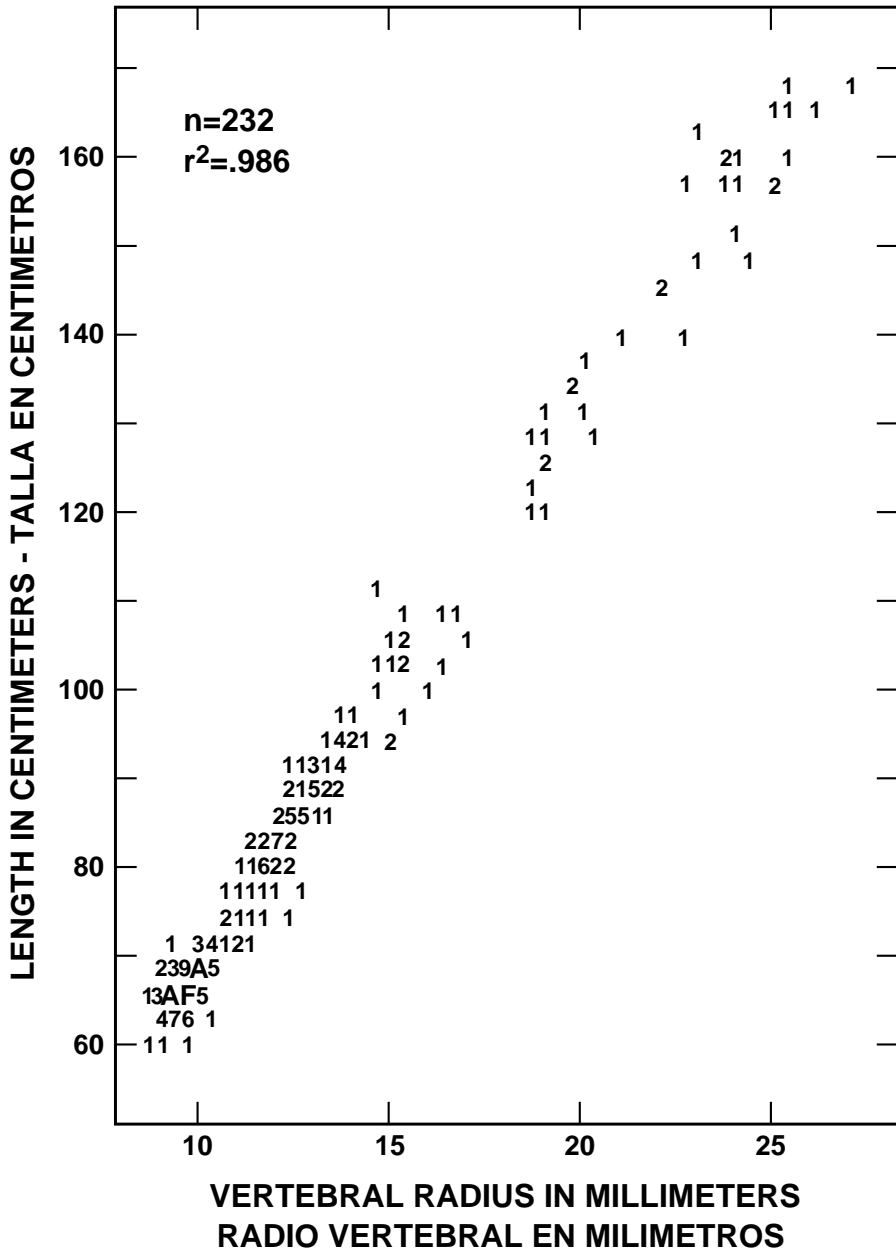


FIGURE 9. Relationship of length to vertebral radius for 232 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean. The numbers represent the numbers of fish. A and F represent 10 and 16 individuals, respectively.
 FIGURA 9. Relación entre talla y radio de la vértebra correspondiente a 232 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental. Los números representan los números de peces. A y F representan 10 y 16 individuos, respectivamente.

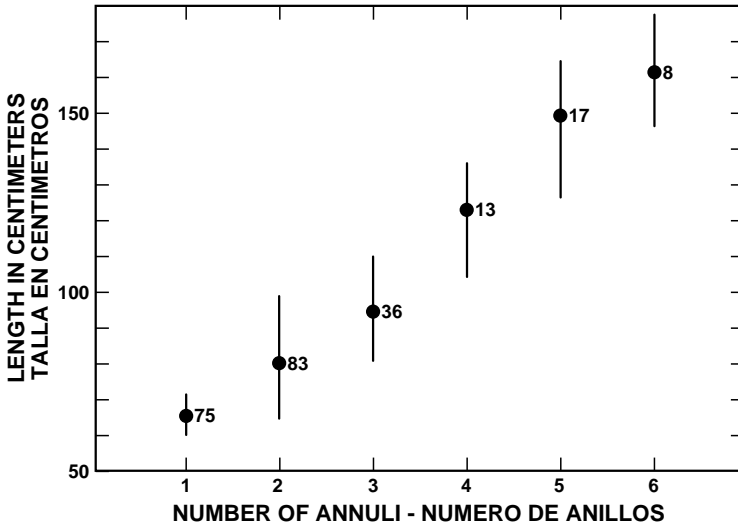


FIGURE 10. Relationship of length at capture to number of annuli for 232 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean. The dots, bars, and numbers represent the means, ranges, and sample sizes, respectively. FIGURA 10. Relación entre talla de captura y número de anillos correspondiente a 232 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental. Los puntos, barras, y números representan los promedios, rangos, y tamaño de las muestras, respectivamente.

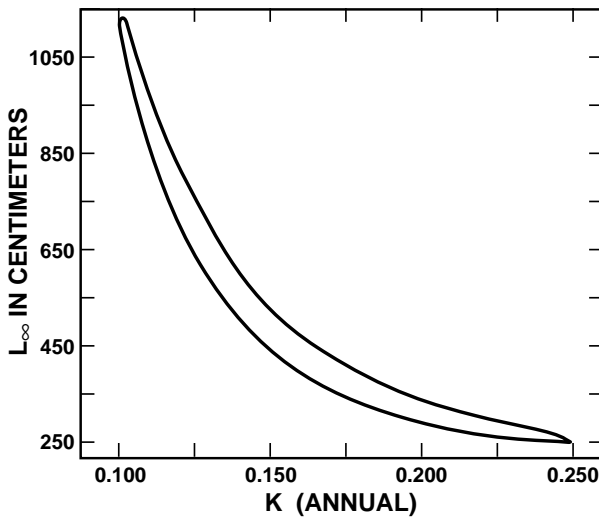


FIGURE 11. Distribution of combinations of values of K and L_{∞} for the Gompertz growth equation fit to the age data for bluefin determined from vertebrae for which the ratios of the sums of squares to the minimum sum of squares are equal to or less than 1.05. FIGURA 11. Distribución de combinaciones de valores de K y L_{∞} correspondientes a la ecuación de crecimiento de Gompertz ajustada a los datos de edad de aletas azules determinados a partir de vértebras para los cuales las razones de las sumas de cuadrados a las sumas mínimas de cuadrados son iguales o inferiores a 1,05.

TABLE 1. Comparison of growth rates and mean lengths at release for bluefin injected (OTC) and not injected (no OTC) with tetracycline, by two-way analysis of variance.

TABLA 1. Comparación de tasas de crecimiento y talla media de liberación correspondientes a aletas azules inyectados (OTC) y no inyectados (no OTC) con tetraciclina, por análisis de varianza de dos entradas.

Growth rates					
Treatment	Days free	Number of fish	Length at release (cm)	Growth rate (cm/mo)	
Tasas de crecimiento					
Tratamiento	Días en libertad	Número de peces	Talla de liberación (cm)	Tasa de crecimiento (cm/mes)	
OTC	1-90	42	21.2	7.7	
	91-180	42	21.2	6.2	
	>180	9	22.4	3.5	
no OTC	1-90	8	18.9	8.8	
	91-180	11	22.2	6.0	
	>180	3	19.7	4.3	
Analysis of variance					
Source	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean square	F	Probability
Análisis de varianza					
Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad
Length at release— Talla de liberación	13.26	1	13.26	4.02	0.0475
OTC	1.81	1	1.81	0.55	0.4600
Days—Días	25.26	2	62.63	18.99	>0.0001
OTC x days—OTC x días	2.46	2	1.23	0.37	0.6900
Error	352.96	107	3.30		

TABLE 2. Daily increment counts for 31 pairs of otoliths of fish tagged and injected near Shikoku Island, Japan, during July-September 1981. The last fish was recaptured in the eastern Pacific. CV = coefficient of variation. *D* = index of precision.

TABLE 2. Conteos de incrementos diarios en 31 parejas de otolitos de peces marcados e inyectados cerca de la Isla Shikoku (Japón) durante julio-septiembre de 1981. El último pez fue recapturado en el Pacífico oriental. CV = coeficiente de variación. *D* = índice de precisión.

Tag number	Date of release (1981)	Length at release (cm)	Date of recapture	Length at recapture (cm)	Growth (cm)	Days free	Counts of increments					CV	<i>D</i>
							1	2	3	4	5		
621X	Aug 4	19	Sep 2, 1981	23.2	4.2	30	31	30	32	30	30.8	.0271	0054
1850X	Aug 18	25	Oct 14, 1981	38.7	13.7	57	61	58	56	58	57.0	.0581	.0116
2940X	Aug 25	22	Oct 15, 1981	37.2	15.2	51	54	51	50	51	51.4	.0295	.0059
3740X	Sep 3	20	Oct 15, 1981	34.2	14.2	63	55	62	58	60	59.2	.0470	.0094
272X	Jul 27	19	Oct 17, 1981	37.9	18.9	82	75	81	79	79	78.6	.0280	.0056
3127X	Aug 28	25	Oct 30, 1981	38.6	13.6	63	66	62	62	59	61.2	.0559	.0112
433X	Aug 3	21	Nov 8, 1981	48.0	27.0	96	95	97	95	93	96	.0157	.0031
3180X	Aug 29	21	Nov 13, 1981	38.5	17.5	77	83	76	75	77	77.2	.0434	.0087
2555X	Aug 25	20	Nov 17, 1981	41.0	21.0	84	82	83	82	83	82.6	.0067	.0013
P1091	Sep 1	24	Nov 19, 1981	42.3	18.3	80	81	80	81	82	83	.0141	.0028
3785X	Sep 6	22	Nov 19, 1981	37.3	15.3	74	75	76	77	77	74	.0172	.0034
2402X	Aug 18	23	Dec 1, 1981	46.2	23.2	109	105	109	109	107	107.8	.0165	.0030
1826X	Aug 18	25	Dec 3, 1981	48.8	23.8	111	110	115	111	109	108	.0244	.0049
1862X	Aug 18	21	Dec 4, 1981	45.2	24.2	112	111	112	113	113	107	.0224	.0045
462X	Aug 3	19	Dec 8, 1981	48.7	29.7	126	119	130	124	126	123	.0324	.0065
420X	Aug 3	20	Dec 9, 1981	47.9	27.9	128	112	130	118	124	120	.0657	.0111
444X	Aug 3	20	Dec 10, 1981	45.4	25.4	129	116	126	142	129	127	.0727	.0145
1777X	Aug 16	19	Dec 10, 1981	45.9	26.9	115	117	110	115	118	112	.0293	.0059
615X	Aug 4	19	Dec 12, 1981	47.3	28.3	130	125	130	131	130	130	.0186	.0037
2484X	Aug 18	23	Dec 13, 1981	48.1	25.1	118	120	116	120	116	117	.0174	.0035
2555X	Aug 25	24	Dec 13, 1981	45.0	21.0	114	107	109	109	106	108.0	.0282	.0056
2899X	Aug 26	20	Dec 16, 1981	40.1	20.1	112	111	112	112	109	112	.0116	.0023
3129X	Aug 28	20	Dec 16, 1981	39.6	19.6	110	109	110	112	109	113	.0163	.0015
2553X	Aug 25	20	Dec 17, 1981	44.4	24.4	114	108	114	116	114	113	.0266	.0053
2594X	Aug 26	20	Dec 17, 1981	44.3	24.3	113	114	116	106	113	117	.0382	.0034
3746X	Sep 3	21	Dec 19, 1981	43.2	22.2	105	106	103	99	107	105	.0304	.0061
2559X	Aug 25	19	Dec 19, 1981	41.6	22.6	86	83	84	85	84	83.6	.0136	.0012
3147X	Aug 28	20	Apr 5, 1982	50.0*	30.0	221	235	239	212	207	233	.0648	.0130
1866X	Aug 18	24	Jul 17, 1982	68.0	44.0	333	333	341	328	335	334.4	.0139	.0028
3728X	Sep 1	22	Jul 17, 1982	63.0	41.0	319	287	327	315	312	316	.0474	.0095
2459X	Aug 18	25	Jul 31, 1982	61.0	36.0	347	368	314	334	345	355	.0774	.0155

*estimated from the equation $\ln \text{length (mm)} = 0.33 \ln \text{weight (kg)} - 19.7$ (Anonymous 1981: 39)—estimated with the equation $\ln \text{length (mm)} = 3.33 \text{ peso ln (kg)} - 19.7$ (Anónimo, 1981: 120).

TABLE 3. Summary of data for counts of increments on otoliths of unmarked fish.
 TABLA 3. Resumen de datos de conteos de incrementos en otolitos de peces no marcados.

Length (cm)	Counts of increments				Standard deviation	Years	Index of precision	Birth month
	1	2	3	Mean				
Talla (cm)	Conteos de incrementos				Desviación estándar	Años	Índice de precisión	Mes de cria
	1	2	3	Promedio				
19.7	125	126	128	126.3	1.5	0.35	0.0058	4
61.0	488	498	479	488.3	9.5	1.34	0.0115	4
65.7	708	727	767	734.0	30.1	2.01	0.0231	7
66.3	691	742	716	716.3	25.5	1.96	0.0231	9
67.2	720	740	756	738.7	18.0	2.02	0.0115	8
67.2	764	761	782	769.0	11.4	2.11	0.0058	8
78.3	986	995	993	991.3	4.7	2.72	0.0027	8
88.6	1148	1029	1068	1081.7	60.7	2.96	0.0346	6
89.2	1149	1142	1076	1122.3	40.3	3.07	0.0231	9
90.2	1294	1292	1292	1292.7	1.2	3.54	0.0005	3
90.9	1163	1109	1167	1146.3	32.4	3.14	0.0173	8
121.0	1430	1379	1390	1399.7	26.8	3.84	0.0115	8
131.5	1994	1990	1992	1992.0	2.0	5.46	0.0006	5
151.1	1615	1608	1607	1610.0	4.4	4.41	0.0016	3
158.6	1735	1783	1703	1740.3	40.3	4.77	0.0115	1

TABLE 4. Estimates of size at annulus formation for four OTC-marked fish, with dates of annulus formation and growth rates. DL = growth. The first fish was recaptured in the eastern Pacific, and the others in the western Pacific. The length at recapture for the fourth fish was estimated from the weight at recapture, using the equation $\ln \text{ weight (kg)} = 3.40 \ln \text{ length (mm)} - 20.1$ for a 2.8-kg fish (Anonymous 1981: 39).

TABLA 4. Estimaciones de talla en el momento de formación del anillo para cuatro peces marcados con OTC, con fechas de formación del anillo y tasas de crecimiento. DL = crecimiento. El primer pez fue recapturado en el Pacífico oriental, y los demás en el Pacífico occidental. La talla de recaptura del cuarto pez fue estimada a partir del peso de recaptura, usando la ecuación $\text{peso (kg)} = 3,40 \text{ talla (mm)} - 20,1$ para un pez de 2,8 kg (Anónimo, 1981: 120).

Tag number	Days free	Length at release (cm)	Length at recapture (cm)	Growth (cm)	Annulus formation		Growth rate (cm/mo)
					Length	Date	
Número marca	Días en li- bertad	Talla de liberación (cm)	Talla de recaptura (cm)	Cre- cimi- ento (cm)	Formación del anillo		Tasa de crecimiento (cm/mes)
					Talla	Fecha	
3147X	221	20	50.0	30.0	40.8	Jan. 27	4.13
2459X	347	25	61.0	36.0	41.0	Feb. 7	3.15
1866X	333	24	68.0	44.0	41.6	Feb. 19	4.02
3728X	319	22	63.0	41.0	40.7	Mar. 16	3.91

TABLE 5. Summary of tag return data and age estimates for bluefin released in the western Pacific and recaptured in the eastern Pacific. S.E. = standard error.

TABLA 5. Resumen de datos de devolución de marcas y estimaciones de edad correspondientes a aletas azules liberados en el Pacífico occidental y recapturados en el Pacífico oriental. S.E. = error estándar.

Tag number	Date of release	Length at release (cm)	Date of recapture	Length at recapture (cm)	Days free	Number of annuli	Length at annulus formation	
							First	Second
Número marca	Fecha de liberación	Talla de liberación (cm)	Fecha de recaptura	Talla de recaptura (cm)	Días en libertad	Número de anillos	Talla al formarse el anillo	
							Primero	Segundo
H4558	Jan 20, 1980	50	Jun 25, 1981	81.8	523	2	45.2	64.8
H5530	Mar 22, 1980	51	Jun 27, 1981	75.5	463	2	48.4	62.9
H6067	Apr 25, 1980	48	Jul 11, 1981	73.2	443	2	45.2	63.5
H5154	Jan 25, 1980	48	Jul 15, 1981	76.6	538	2	49.0	73.6
H4849	Mar 11, 1980	52	Jul 23, 1981	76.7	500	2	43.6	67.3
H5532	Mar 22, 1980	49	Aug 15, 1981	79.2	512	2	48.3	64.2
Y0719	Nov 30, 1981	49	Sep 5, 1982	64.9	279	2	48.4	62.9
O6561	Aug 30, 1981	30	Oct 12, 1982	70.1	409	2	42.7	61.0
Y4587	Dec 21, 1983	53	Oct 6, 1984	70.1	291	2	51.5	62.9
Y3105	Dec 20, 1983	49	Feb 13, 1985	69.5	422	2	45.8	65.4
Mean—Promedio		47.9		73.8	438	2	46.8	64.9
S.E.		2.1		1.6	28.9	0	0.9	1.1
Range—Rango	Aug 30-Apr 25		Feb 13-Oct 12					

TABLE 6. Lengths at annulus formation estimated from vertebrae of 232 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean during 1981-1984, using the Lee method.

TABLA 6. Tallas en el momento de formación del anillo estimadas a partir de las vértebras de 232 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental durante 1981-1984, usando el método de Lee.

Annuli	Number of fish	Mean radius of vertebrae	Mean length of fish	Standard deviation	Range (cm)
Anillos	Número de peces	Radio promedio de las vértebras (mm)	Talla media de los peces (cm)	Desviación estándar	Rango (cm)
1	75	6.9	49.4	3.5	39.5-57.6
2	83	9.7	67.4	6.3	50.0-84.2
3	36	12.1	82.4	7.2	69.5-99.3
4	13	16.7	111.4	12.5	91.3-129.8
5	17	20.6	134.5	8.1	119.3-149.8
6	8	22.6	149.1	7.3	132.4-155.8

TABLE 7. Estimates, from vertebrae, of ages at capture of 232 bluefin caught in the eastern Pacific Ocean during 1981.
 TABLA 7. Estimaciones, basadas en vértebras, de la edad de captura de 232 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental durante 1981.

Length— Talla (cm)	Age—Edad					
	1+	2+	3+	4+	5+	6+
59	1					
60						
61	2					
62	4					
63	7					
64	10	1				
65	8	3				
66	15	1				
67	14					
68	13	2				
69		4				
70	1	4				
71		6				
72		1				
73		3				
74		2				
75		1				
76		1				
77		2				
78		3				
79						
80		9	1			
81		4				
82		5	2			
83		1				
84		3	2			
85		5				
86		4	2			
87		2	1			
88		2	2			
89		2	2			
90		1	3			
91		3	1			
92		4				
93		1	3			
94		1	3			
95		1	1			
96			1			
97						
98		1	1			
99						
100			1			
101						
102			1			
103			4			
104					1	
105					1	
106			2			
107			2		1	
108						
109						
110			1			
111						
112						
113						
114						
115						

TABLE 7. (continued)
TABLA 7. (continuación)

Length— Tala (cm)	Age—Edad					
	1+	2+	3+	4+	5+	6+
116						
117						
118						
119						
120				1		
121				1		
122						
123				1		
124						
125						
126						
127				1	1	
128				2		
129					1	
130						
131				1	1	
132						
133				2		
134						
135				1		
136						
137						
138					1	
139						
140					1	
141						
142						
143						
144					1	
145						
146						
147					1	1
148					1	
149						
150						
151					1	
152						
153						
154						
155						
156						
157					3	
158					1	2
159						
160					2	1
161					1	
162						
163						
164						
165					1	1
166						1
167						1
168						1
Total	75	83	36	13	17	8
Mean—Promedio	65.9	80.1	94.5	123.1	149.2	161.4

TABLE 8. Estimates, from scales and spines, of ages of bluefin caught in the eastern Pacific Ocean in 1980.
 TABLA 8. Estimaciones, basadas en escamas y espinas, de la edad de aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental en 1980.

Scales					Spines				
Length (cm)	1+	2+	3+	Unreadable	Length (cm)	1+	2+	3+	Unreadable
Escamas					Espinas				
Talla (cm)	1+	2+	3+	Ilegibles	Talla (cm)	1+	2+	3+	Ilegibles
60					60				
61					61				
62		1			62				1
63		1		1	63		2		
64	1				64	1			
65	2	2			65		3		1
66	2	2		4	66	2	4		
67	3	2		2	67	3	3		2
68	2			1	68	2	3		
69	2	2		1	69	1	4		
70	1	4		2	70	1	6		
71	2	5		1	71	2	6		1
72	3	7	1	3	72	4	13		1
73	3	6	1	3	73	2	10		1
74	5	6		4	74	2	17	1	
75	1	3	2	3	75	1	9		
76	1	3		2	76	4	4		
77		3			77	2	3		
78	1	3		2	78	2	3	1	
79		1		3	79		5		
80		2			80		2		
81		1		1	81	1	1	1	
82					82	1			
83			1	1	83		2	1	
84					84				
85		1			85		1		
86					86				
87					87				
88					88				
89					89				
90					90				
91					91				
92					92				
93					93				
94				1	94			1	
95	1				95			1	
96					96				
97					97				
98					98				
99	1	1			99		1		
100			1		100			2	
101					101				
102					102				
103		2			103			2	
Total	31	58	6	35		31	102	10	7
Mean— Promedio	72.3	74.2	79.7	73.4		73.4	73.6	91.7	68.2

TABLE 9. Estimates of the coefficient of variation, index of precision, and percentage of readable samples for different hard parts.
 TABLA 9. Estimaciones del coeficiente de variación, índice de precisión, y porcentaje de muestras legibles correspondientes a distintas partes duras.

Structure	Number of fish	Coefficient of variation	Index of precision	Percent readable
Estructura	Número de peces	Coficiente de variación	Indice de precisión	Porcentaje legible
otoliths—otolitos				
replica—réplica	15	0.0360	0.0090	100.0
OTC analysis— análisis de OTC	31	0.0317	0.0063	100.0
vertebrae—vértebras	25*	0.0635	0.0212	100.0
scales—escamas	95	0.1586	0.0397	63.3
spines—espinas	143	0.2559	0.0853	95.3

*from a subsample of 25 fish examined by different readers—de una submuestra de 25 peces examinados por distintos lectores

TABLE 10. Tag return data for bluefin treated and not treated with OTC. The returns for which date of recapture or length at recapture data were missing are not included.
 TABLA 10. Datos de devolución de marcas para aletas azules tratados y no tratados con OTC. No se incluyen devoluciones de fecha de recaptura o talla de recaptura desconocidas.

Days free	Number of fish	Not treated with OTC				Treated with OTC				Mean days	Growth (cm/mo)		
		Mean length	Growth (cm)	Mean days	Growth (cm/mo)	Mean length	Growth (cm)	Mean days	Growth (cm/mo)				
Días en libertad	Número de peces	No tratados con OTC		Pro- medio días	Creci- miento (cm)	Tratados con OTC		Pro- medio días	Creci- miento (cm)	Mean days	Growth (cm/mo)		
		Talla media	Lib. Recap.			Talla media	Lib. Recap.						
1-30	1	20.0	28.0	8.0	23.0	10.6	1-30	6	21.8	24.9	3.1	18.7	5.0
31-60	1	20.0	35.0	15.0	45.0	10.1	31-60	15	21.3	33.4	12.1	43.7	8.4
61-90	6	18.6	38.7	20.1	75.7	8.1	61-90	21	21.2	38.5	17.3	73.9	7.1
91-120	6	23.3	43.4	20.1	106.8	5.7	91-120	29	21.4	44.4	23.0	108.5	6.5
121-150	4	20.3	49.4	29.1	137.0	6.5	121-150	10	20.3	45.7	25.4	129.5	6.0
151-180	1	23.0	51.0	28.0	152.0	5.6	151-180	3	22.3	48.0	25.7	163.7	4.8
181-210	1	17.0	52.5	35.5	190.0	5.7	181-210	0	—	—	—	—	—
211-240	0	—	—	—	—	—	211-240	1	20.0	50.0	30.0	236.0	3.9
241-270	0	—	—	—	—	—	241-270	0	—	—	—	—	—
271-300	0	—	—	—	—	—	271-300	0	—	—	—	—	—
301-330	0	—	—	—	—	—	301-330	4	21.8	62.8	41.0	318.8	3.9
331-360	1	22.0	67.9	45.9	338	4.1	331-360	2	25.0	64.5	39.5	341.0	3.5
391-410	1	20.0	61.0	41.0	391	3.2	391-410	0	—	—	—	—	—
661-690	0	—	—	—	—	—	661-690	2	22.5	77.6	55.1	677.0	2.5
Total	22							93					

TABLE 11. Estimates of growth rates of bluefin caught in the eastern Pacific during 1981-1983, determined from length-frequency data.

TABLA 11. Estimaciones de las tasas de crecimiento de aletas azules capturados en el Pacífico oriental durante 1981-1983, determinadas a partir de datos de frecuencia de talla.

Year	Major modes				Growth (cm/mo)
	Initial		Final		
	Month	Length (cm)	Month	Length (cm)	
1981	June	72	September	80	2.67
1982	July	62	October	70	2.67
1983	July	72	September	80	4.00
Mean—Promedio					3.11

TABLE 12. Estimates of growth rates of bluefin caught in the eastern Pacific during 1981-1983, determined from vertebrae.

TABLA 12. Estimaciones de las tasas de crecimiento de aletas azules capturados en el Pacífico oriental durante 1981-1983, determinadas a partir de vértebras.

Age interval	Number of fish	Mean growth rate (cm/mo)	95-percent confidence interval
Intervalo de edad	Número de peces	Tasa media de crecimiento (cm/mes)	Intervalo de confianza de 95%
1-2	76	1.72	1.61-1.84
2-3	35	1.56	1.40-1.71
1-3	35	1.56	1.46-1.65
1-6	8	1.76	1.62-1.90

ESTIMACIONES DE LA EDAD Y CRECIMIENTO, Y UNA EVALUACION DE LAS TECNICAS DE DETERMINAR LA EDAD, DEL ATUN ALETA AZUL DEL NORTE, *THUNNUS THYNNUS*, EN EL OCEANO PACIFICO

por

Terry J. Foreman¹

RESUMEN

Un experimento de marcado con marcas externas y con hidrócloro de oxitetraciclina (OTC) llevado a cabo en el Océano Pacífico mostró que el atún aleta azul, *Thunnus thynnus*, deposita microincrementos diarios en los otolitos e incrementos anuales en la vértebra 35, al menos en peces jóvenes. Es probable que la edad de los peces mayores sea subestimada por el conteo de microincrementos. Ni las escamas ni las espinas dorsales presentaron marcas de OTC. Se calcularon estimaciones de la tasa de crecimiento a partir del marcado, y estimaciones de la edad a partir de vértebras muestreadas de la captura del Pacífico oriental. El uso de las vértebras parece ser la mejor alternativa para la determinación rutinaria de la edad, con base en los criterios de precisión, exactitud, y los aspectos prácticos del método.

INTRODUCCION

El atún aleta azul del norte, *Thunnus thynnus*, ocurre en el Océano Atlántico, inclusive el Golfo de México, el Mar Mediterráneo, y el Mar Báltico, y en el Océano Pacífico, inclusive el Mar de China Oriental y el Mar del Japón (Gibbs y Collette, 1967; Bayliff, 1980; Calkins, 1982; Collette y Nauen, 1983; Cort, 1990). Gibbs y Collette (1967) reconocen dos subespecies, *T. thynnus thynnus* (Linnaeus) en el Atlántico norte y *T. thynnus orientalis* (Temminck y Schlegel) en el Pacífico norte. Ambas subespecies migran a través de océanos (Clay, 1991; Bayliff, 1993). El aleta azul es el blanco de pesquerías intensivas, comerciales y deportivas, en muchos países. En los últimos años han disminuido las capturas en el Atlántico y el Pacífico; la evaluación de los stocks es por lo tanto ahora un tema crítico (Hanan, 1983; Magnusson *et al.*, 1994).

Se ha estimado la edad y crecimiento de atunes aleta azul del Océano Pacífico a partir del análisis de datos sobre la liberación y recaptura de especímenes marcados (Koski, 1967; Bayliff *et al.*, 1991), frecuencias de talla (Yokota *et al.*, 1961; Koski, 1967; Bayliff, 1993), y marcas en las partes duras (Aikawa y Kato, 1938; Bell, 1963; Koski, 1967; Yukinawa y Yabuta, 1967; Schultze y Collins, 1977). Se han calculado estimaciones de la edad y crecimiento de aletas azules del Océano Atlántico (Cort, 1990), pero es posible que no sean aplicables al Océano Pacífico, ya que los aletas azules del Atlántico están probablemente aislados genéticamente de los del Pacífico, y alcanzan tallas mayores.

A partir de datos de marcado, Bayliff *et al.* (1991) calcularon estimaciones del crecimiento de aletas azules de entre unos 20 y 150 cm de talla en el Océano Pacífico. Dichas estimaciones son útiles para evaluar estimaciones preparadas con otros métodos, pero sería imposible estudiar el crecimiento de peces grandes y la variación anual en el crecimiento de peces de cualquier tamaño a partir de datos de marcado. Series de polígonos mensuales de frecuencia de talla correspondientes a aletas azules capturados entre 1973 y 1980 en el Pacífico oriental (Calkins, 1982) demuestran que se solapan considerablemente las tallas de peces que parecen pertenecer a distintos grupos de edad, y puede por lo tanto

¹Dirección actual: California Department of Fish and Game, P.O. Box 852, Ramona, California 92065, EE.UU.

ser difícil estimar la edad y el crecimiento a partir de frecuencias de talla (Bayliff y Calkins, 1979). Sin embargo, Bayliff (1993) concluyó que en muchos casos es posible clasificar por edad aletas azules jóvenes capturados en el Océano Pacífico oriental mediante el estudio de datos de frecuencia de talla, y usó datos de 1952–1991 para estimar tasas de crecimiento y asignar peces a clases anuales.

La mejor manera de calcular estimaciones de la edad de atunes aleta azul del Océano Pacífico oriental es con las partes duras, para lo cual se necesita saber la tasa de deposición de marcas naturales. Se puede estimar dicha tasa marcando las partes duras con un fluorocromo, tal como hidrócloro de oxitetraclina (OTC), que se enlaza con calcio libre en la plasma y es depositado en los puntos de crecimiento en las partes duras, creando así una marca artificial en la parte dura. Luego se fija una marca externa al pez, y es liberado. Posteriormente, si es recapturado, sus partes duras son extraídas y examinadas bajo luz ultravioleta para descubrir la marca fluorescente amarillenta-verdosa indicativa de la presencia de OTC. El número de incrementos naturales entre la marca artificial y el borde de la parte dura es comparado al período en el cual el pez permaneció en libertad entre ser marcado y recapturado, determinando así la tasa de deposición de la marca natural para ese pez.

En el presente informe, se usan datos sobre el número de incrementos en los otolitos y vértebras de atunes aleta azul distales a marcas creadas por inyección de OTC para determinar la periodicidad de los incrementos formados en la parte dura. Se evalúan la rapidez y exactitud de la determinación de la edad a partir de las partes duras de aletas azules del Océano Pacífico, y se presentan estimaciones de la tasa de crecimiento. Se estiman dichas tasas a partir de los datos de edad generados por el análisis de las vértebras y de experimentos de marcado con marcas exteriores.

MÉTODOS Y MATERIALES

El estudio consiste de dos partes separadas. Un estudio de marcado en el campo, realizado en el Japón, consiste de marcado exterior; inyección con OTC, y liberación de aletas azules criados en ese mismo año, recapturados subsecuentemente en las pesquerías comerciales frente al Japón y América del Norte. A continuación se analizaron las partes duras, usando la metodología presentada por Wild y Foreman (1980). La segunda parte del estudio fue realizada con aletas azules capturados frente a América del Norte. Consistió del muestreo sistemático de la captura comercial para partes duras, con las cuales se determinó la precisión de las estimaciones de la edad y se estimaron las tasas de crecimiento.

Estudio de campo del aleta azul en el Japón

Las partes duras de los atunes aleta azul fueron marcadas con OTC, usando un método similar a aquel descrito por Wild y Foreman (1980). Entre julio y septiembre de 1981, 880 atunes aleta azul de entre 19 y 26 cm de talla fueron marcados desde pequeños barcos curricaneros frente a Kochi, en la Isla de Shikoku (Japón). (Todas las medidas de peces en este informe fueron tomadas del punto del hocico a la cauda furcal.) Cada pez fue medido al centímetro más cercano en una cuna especial, y se le fijó una marca de dardo de vinilo de 9 cm de largo individualmente numerada bajo la segunda aleta dorsal. Se usó una jeringa Becton-Dickinson desechable de 1 cc con una aguja de calibre 25 AWG (0,26 mm) y 16 mm de largo para inyectar 0,1 cc de 100 mg.ml⁻¹ de OTC, una dosis de aproximadamente 33 mg.kg⁻¹. Todos los peces fueron procesados en 30 segundos o menos entre la captura y la liberación. Como control experimental para determinar si la inyección afectaba la supervivencia o el crecimiento, 344 peces adicionales fueron marcados y liberados, pero no inyectados. Los peces fueron recuperados tras su captura por pescadores comerciales, quienes propor-

cionaron información sobre el lugar y fecha de recaptura. El número de días en libertad fue determinado sumando el día de marcado, y los días subsecuentes, hasta e inclusive el día de recaptura.

Preparación y análisis de partes duras marcadas con OTC

Otolitos marcados con OTC

Las sagitas (la más grande de las tres parejas de otolitos) de atunes aleta azul marcados con OTC fueron limpiadas en una solución de hipoclorito de sodio (blanquimiento) usando un pincel de nylon y pinzas, enjuagadas en agua destilada, y almacenadas secas en un lugar oscuro para evitar fotólisis de la marca (Weber y Ridgway, 1967). (De ahora en adelante, para concordar con la terminología de la mayoría de la literatura sobre este tema, se referirá a las sagitas como "otolitos.") La marca fluorescente amarillenta-verdosa fue ubicada bajo el microscopio, usando luz ultravioleta de una lámpara de mercurio de 200 vatios. La longitud de la onda de excitación fue limitada por una combinación de filtros BG-12 y B(500 nm), y la autofluorescencia fue reducida con un filtro de barrera de 530 nm (Weber y Ridgway, 1967; Wild y Foreman, 1980).

Wild y Foreman (1980) establecieron que no es necesario seccionar los otolitos de los atunes para obtener estimaciones exactas de la edad. Se contaron los microincrementos entre la marca de OTC y el rostro o postrosto de uno de los dos otolitos, puesto que estudios previos con otras especies, entre ellas atunes (Wild y Foreman, 1980; Laurs *et al.*, 1985), no mostraron ninguna diferencia entre los conteos realizados en el otolito derecho e izquierdo. Se sabe que el eje rostro-postrosto en los otolitos de los atunes produce los conteos más elevados. Los otolitos de peces pequeños son frágiles, y el rostro estaba a menudo roto o perdido, así que en la mayoría de los casos se realizó el conteo superficial en el eje primordio-postrosto.

Se realizaron los conteos en un portaobjetos con depresión a 480-720x, usando aceite de inmersión (nD, 23°C = 1,515) para mejorar la resolución. Para mejorarla aún más (en caso necesario), se usó la secuencia siguiente de técnicas de preparación. Se intentaron inicialmente conteos directos en la superficie distal del postrosto o, en unos pocos casos, el rostro. Si no se podía resolver los microincrementos, se limpió el otolito en xilena y acetona para quitar el aceite de inmersión, se secó, y se colocó en Plastilina, sustancia similar a la arcilla, con el postrosto o rostro elevado y sobresaliendo de la Plastilina. La ruta de conteo fue grabada bajo amplificación baja con ácido clorhídrico (HCl) al 2N aplicado con un pincel de punta fina, procurando no diluir los microincrementos al borde. Esta técnica aparta la sobrecarga (el exceso de carbonato de calcio depositado) y expone los microincrementos subyacentes. Se vigiló el proceso bajo alta amplificación para asegurar que el grabado no fuese excesivo. Una vez expuestos los microincrementos, se sumergió el otolito entero en blanquimiento, se enjuagó en agua destilada y luego en acetona, y se secó al aire, antes de volver a sumergirlo en aceite. Los microincrementos en cada otolito fueron contados al menos cinco veces.

Estudio de los microincrementos con microscopía electrónica de barrida

La apariencia de los microincrementos y el efecto de las técnicas de preparación puede variar entre especies de peces. Los otolitos de aletas azules de varias tallas entre 70 y 151 cm no marcados con OTC fueron preparados con distintas combinaciones de métodos (Haake *et al.*, 1982) para obtener mayor información sobre la apariencia estructural de los microincrementos, y para determinar el método de preparación que más mejoraría la legibilidad de los otolitos. Se prepararon muestras de la superficie exterior y de secciones sagital y frontal a lo largo del plano rostro-postrosto. Se montaron los otolitos en resina de Spurr, se dejaron a secar una noche a

70°C, y se seccionaron con una sierra Isomet de baja velocidad con hoja de diamante. A continuación se pulieron las secciones con una serie de papeles de lija de mylar de grado 400 y 600, y se grabaron con (1) glutaraldehida (GA) de pH 7,5 en un tampón de 0,1 mOsM cacodilato de sodio durante 4 horas, (2) ácido etilendiaminotetracético (EDTA) de pH 7,8 al 2% durante 1 minuto, o (3) HCl al 0,5 o 2N hasta que aparecieran los microincrementos. Se revistieron las secciones de oro y se fotografiaron en un microscopio electrónico de barrida Hitachi S500 a 25 kV con amplificaciones de de 900 a 10.000x.

Vértebras marcadas con OTC

En este estudio se usó la 35ª vértebra caudal, que según Berry et al. (1977) y Lee et al. (1983) produce los conteos mayores y más consistentes. Prince et al. (1985) descubrieron que en “atunes de cardumen” (“*school tuna*”) (de unos 50 a 146 cm de talla) los conteos en la superficie del centro de las vértebras eran más precisos que aquellos de secciones finas de las mismas. Ya que este rango de tallas se aproxima a la del aleta azul capturado en el Océano Pacífico oriental, se analizaron vértebras enteras y no secciones. Las vértebras fueron separadas cuidadosamente, ya que la destrucción del borde cartilaginoso podría afectar las mediciones subsecuentes. Se limpió de la cara anterior del centro la sustancia gelatinosa entre las vértebras, y se lavó la vértebra en agua y se colocó cara anterior arriba bajo un microscopio de disección, donde fue examinado a 10 a 15x, usando un foco ultravioleta de mano, a oscuras. La marca de OTC apareció como una anillo brillante amarillento verdoso en la cara del centro. Se estimaron las distancias radiales a la marca midiendo las distancias verticales entre los planos focales y las distancias laterales con un micrómetro de platina (Figura 1) y la aplicación posterior del teorema de Pitágoras. A continuación se sumergieron las vértebras en tinte alizarin rojo S (Galtsoff, 1952) durante de 1 a 5 horas, según su tamaño, se enjuagaron bajo un chorro de agua de grifo durante de 15 a 30 minutos, y se dejaron a secar una noche a 60°C en un horno con un desicante. Se tomaron mediciones del foco a toda marca natural presente y al borde del centro de la forma arriba descrita. Los anillos fueron caracterizados por diferencias en la absorción del tinte y juegos repetidos de pequeñas crestas y valles en la cara del centro. El eje dorsal o ventral parece comprimir a los anillos, dificultando su lectura, y por lo tanto se usó el campo lateral para el análisis.

Escamas

Ya que las escamas de la mayoría de los atunes, especialmente los juveniles, son relativamente pequeñas, es difícil procesarlas y trabajar con ellas. Las escamas de los tres peces más grandes inyectados con OTC fueron examinadas para marcas de OTC, antes de teñirlas, bajo un microscopio de disección, usando un foco ultravioleta de mano, a oscuras, a 10 a 15x. No fue evidente ninguna marca, y se prensaron las escamas entre dos portaobjetos y se examinaron a amplificación baja con la misma metodología usada para los otolitos marcados con OTC. No se descubrió ninguna marca con este método tampoco.

Espinas

Las espinas son también muy pequeñas, especialmente en peces de menos de 40 cm de talla. Las primeras espinas dorsales de peces tomados en Japón, la mayoría de ellos de menos de 40 cm de talla, fueron colocadas en bolsas de plástico y congeladas. La carne adjunta fue apartada con un escalpelo y las espinas fueron fijadas a bloques de madera con un cemento termoplástico. Con una sierra Isomet de baja velocidad con hoja de diamante se cortó una sección de 0,5 a 1,0 mm de la base de cada espina aproximadamente 5 mm encima de los cóndilos laterales, se montó en un portaobjetos de cristal con fijativo Flo-texx, y se dejó fraguar. Las secciones fueron examinadas bajo un microscopio de disección a 15x, usando un foco ultravioleta de mano, a oscuras.

Preparación y análisis de partes duras tomadas de la captura

Muestreo de la captura del Pacífico oriental

En plantas enlatadoras en Terminal Island y San Diego (California) y Ensenada (México) se hicieron rutinariamente muestras de atún aleta azul capturado por la flota cerquera en el Océano Pacífico oriental en el mismo área y mes, y preferiblemente en lances individuales de la red. El pescado fue capturado por barcos cerqueros faenando entre latitud 24°N y 34°N a menos de 120 millas náuticas de la costa. Durante 1980, 1981, y 1982, cada quinto pez de una porción de una muestra de frecuencia de talla de 50 peces fue submuestreado para una serie de partes duras (otolitos, escamas, y la primera espina dorsal) y catalogado con información sobre el área y fecha de captura y talla. El objetivo era lograr una representación adecuada de todas las clases de tamaño de peces, y en 1981 y 1982 los peces fueron seleccionados de forma correspondiente. En 1983 y 1984 se tomaron muestras adicionales de otolitos, escamas, espinas, y vértebras para aumentar el número de muestras de las clases de tamaño poco representadas en las muestras previas.

No se determinó el sexo de los peces muestreados. Tasas de crecimiento sexualmente dimórficas en atunes maduros han sido documentadas por Caddy et al. (1976) y Wild (1986), y en marlines azules (*Makaira nigricans*) inmaduros (Wilson et al. 1991). En el caso del aleta azul del Pacífico, Hirota et al. (1976) reportaron que una aleta azul macho mantenido en cautiverio maduró a los tres años de edad, pero Harada (1980) descubrió que en el mar el desove ocurre por primera vez alrededor de los cinco años de edad y 150 cm de talla. Esta estimación de cinco años concuerda con estimaciones para el aleta azul del Atlántico (Clay, 1991) y el aleta azul del sur (Davis, 1991). Ya que la mayoría de los peces usados en este estudio eran de edad y talla considerablemente menores, se supone que eran inmaduros. Además, es poco frecuente la captura de aletas azules grandes y maduros en el Pacífico oriental (Foreman e Ishizuka, 1990). Por consiguiente se supuso que no existe ninguna diferencia entre las tasas de crecimiento de machos y hembras.

Preparación y lectura de partes duras

Otolitos

Se prepararon los otolitos tomados de peces no inyectados grabando la superficie dorsal en el eje primordio-postrostro con el método usado para los otolitos de peces inyectados con OTC, arriba descrito. Sin embargo, puesto que estos otolitos eran de peces más grandes, su grosor en la ruta de conteo imposibilitó la lectura directa de la superficie, debido a la transmisión reducida de la luz y la interferencia del relieve morfológico con el movimiento del objetivo. Por lo tanto, se usó una técnica de replicación (Pannella, 1971; Wild y Foreman, 1980), para la cual se cubre la superficie grabada con una hoja delgada de acetato de celulosa, ablandada en acetona. Se permite a la hoja endurecerse, se separa de la muestra, y se aplanan en una portaobjetos de cristal bajo un cubreobjetos. Este método elimina los problemas de profundidad del campo, y parece producir una representación exacta de la microestructura del otolito.

Los microincrementos en la réplica fueron contados al menos cuatro veces desde el postrostro hacia el primordio. El ancho de los microincrementos fue medido con un micrómetro ocular.

Una comparación de las estimaciones de edad calculadas a partir de microincrementos diarios en los otolitos y anillos en las vértebras (ver sección más adelante sobre la comparación de estimaciones de otolitos y vértebras) señala que las estimaciones de los otolitos son más bajas que aquellas de la vértebras para peces de 4 años o más de edad estimada. Se sospechó que no se estaban contando los microincrementos diarios más estrechos, tal como ocurrió con albacoras (*Thunnus alalunga*) grandes (Laurs et al., 1985), y se aumentó la amplificación. Una réplica de un pez de 151 cm produjo 530 microincrementos.

tos más a 2160x que a 1800x (señalado con estrellas en la Figura 8). La estimación mayor era más consistente con las estimaciones obtenidas de las vértebras, pero el conteo con cualquiera de las dos ampliificaciones es tan lento que resulta impráctico para la determinación rutinaria de la edad.

Vértebras

Vértebras de 232 aletas azules no inyectados tomados de la captura del Pacífico oriental fueron preparadas con las mismas técnicas usadas para los peces inyectados. Tras teñirlas y secarlas, fueron medidas al 0,1 mm más cercano a 10x, usando una regla de plástico con un extremo ahusado que permitía acceso al origen del centro.

Escamas y espinas

Los estudios previos en los que se usaron escamas (Koski, 1967; Schultze y Collins, 1977) fueron realizados cuando la mayoría de los aletas azules provenientes del Océano Pacífico oriental eran capturados por barcos cerqueros pequeños que descargaban tras unos pocos días de pesca. La mayoría del pescado en el presente estudio provino de barcos de mayor capacidad que lo habían almacenado durante semanas o meses tras capturarlo, y se perdió la mayoría de las escamas como resultado de abrasión en las bodegas del barco. Es preferible tomar las escamas del área dorsal entre el pedúnculo caudal y la segunda aleta dorsal, pero en la mayoría de los casos se perdieron estas escamas durante el almacenamiento o descarga, y por lo tanto se usaron escamas de otras áreas del pescado. Las escamas de estas otras áreas contenían generalmente glóbulos de aceite y/o áreas más gruesas que borrarán el historial de crecimiento en el centro de las escamas, inutilizándolas para la determinación de la edad (Koski, 1967; Schultze y Collins, 1977). Escamas del corselete (el área bajo la primera aleta dorsal hasta la raya lateral) fueron siempre ilegibles. Debido a estos problemas, para muchos peces la edad no fue determinada a partir de las escamas.

La preparación de las escamas para el análisis siguió los procedimientos de Bell (1963) y Koski (1967). Fueron almacenadas secas en sobres de papel, y luego procesadas limpiándolas en hidróxido de potasio al 3% durante 24 horas, lavándolas en agua de grifo durante 1 hora, fijándolas con ácido acético al 2% durante 1 hora, tiñiéndolas con eosina A al 1% durante 2 horas, y enjuagándolas en agua de grifo durante 1 hora. Se examinaron las escamas teñidas en agua en un platillo de cristal a 15x, tras lo cual se montaron entre dos portaobjetos de microscopio y se colocaron en un proyector de escamas, y se midió la distancia a cada anillo en la imagen proyectada.

Se extrajo la primera espina dorsal y se mantuvo congelada hasta el análisis. Se procesaron las espinas de la misma forma que los especímenes marcados con OTC, excepto que se usó luz blanca proyectada desde abajo para iluminación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinación de tasas de deposición de marcas en las partes duras

Devoluciones de peces marcados

El número de liberaciones y devoluciones de peces marcados fue como sigue:

	Liberados	Devueltos		Devueltos con datos sobre fecha de recaptura	
	Número	Número	%	Número	%
Marcados con OTC	880	142	16.1	93	10.6
No marcados con OTC	344	36	10.5	22	6.4

Las devoluciones provinieron de pescadores que pescan con curricán cerca de las islas de Shikoku y el sur de Honshu y de otros que pescan con red de cerco frente al norte de Honshu en un área centrada en aproximadamente 41°N–150°E. Además, un pez fue recapturado por un barco cerquero frente a Baja California en aproximadamente 32°N–118°W. Una prueba de ji cuadrado ($\chi^2 = 30,20$, g.l. = 1, $p < 0,001$) indicó que la tasa de devolución de peces inyectados fue significativamente mayor que la de los peces de control. Weber y Ridgway (1967) también obtuvieron tasas de devolución más elevadas para salmones plateados (*Oncorhynchus kisutch*) marcados con OTC (pero no con marcas externas), y las atribuyeron a una diferencia en la supervivencia, debida probablemente a prevención de enfermedades por la OTC. En el presente estudio, empero, es posible que la diferencia se deba, al menos parcialmente, a la selección de solamente peces en excelente condición para la inyección durante las faenas de marcado. Las tasas de crecimiento para los peces inyectados y de control (Tabla 1) fueron estratificadas por días en libertad y comparadas con un análisis de varianza de dos entradas, con talla de liberación como covariable. No se detectaron diferencias entre las tasas de crecimiento de los dos grupos de peces.

Solamente 31 peces marcados con OTC eran utilizables para el análisis de partes duras (Tabla 2), ya que la mayoría de las marcas de peces inyectados con OTC fueron devueltas sin el pez correspondiente y/o sin información sobre la fecha de recaptura. La talla de recaptura de los peces varió de 23 a 68 cm, con un promedio de 42,2 cm.

Otolitos

Los microincrementos en los otolitos (Pannella, 1971) han sido usados para intentar determinar la edad de atunes aleta azul del Atlántico en el año de cría (Brothers *et al.*, 1983) y mayores (Radtke, 1984), aleta amarilla (*Thunnus albacares*) (Wild y Foreman, 1980; Wild, 1986), barrilete (*Katsuwonus pelamis*) (Wild y Foreman, 1980; Uchiyama y Struhsaker, 1981), y albacora (Laurs *et al.*, 1985). Se determinó que los microincrementos son formados a intervalos diarios en los otolitos del aleta azul y aleta amarilla, pero que el barrilete y albacora presentaban menos de un incremento por día en los otolitos. Se cree ahora que las desviaciones de la razón de 1:1 en el barrilete se debían a una interrupción en la formación de incrementos en peces de entre 50 y 62 cm, y no a dificultades en la interpretación de los microincrementos (Wild *et al.*, 1995). Los resultados de un análisis de datos de marcado (Bayliff *et al.*, 1991) indican que la tasa de crecimiento de peces pequeños durante el período del experimento con los aletas azules fue rápida con respecto a la de aletas azules mayores. Durante el crecimiento rápido, las estructuras en los otolitos que parecen ser microincrementos son mucho más anchas que durante otras etapas del ciclo vital. Forman arcos amplios que con frecuencia se dividen en subunidades en la ruta de conteo pero se unen para formar un solo microincremento al lado de la ruta. La interpretación es por lo tanto difícil.

Ya que se ha establecido que los microincrementos son depositados a diario durante el crecimiento temprano del aleta azul del Atlántico (Brothers *et al.*, 1983) y de otras especies, por ejemplo el barrilete negro, *Euthynnus lineatus* (Wexler, 1993), se supuso provisionalmente que ocurre lo mismo en el aleta azul del Pacífico. Por consiguiente, a fin de desarrollar rápidamente criterios para definir un incremento, se examinaron los otolitos de dos aletas azules de períodos de libertad conocidos. Si una aplicación rígida de estos criterios a los demás otolitos arrojara razones de 1:1 entre microincrementos y días en libertad, entonces se podría dar por sentado que la interpretación es consistente entre especímenes, que las estructuras definidas por los criterios son depositadas diariamente, y que la deposición no es interrumpida en el rango de tallas estudiado (Tabla 2). El número de peces en la tabla es inferior al número en las Tablas 1 y 10 porque la Tabla 2 incluye solamente datos de peces de los que se obtuvieron otolitos. La relación es expresada por

$$I = 10,178 + 0,993D,$$

donde I = número medio de microincrementos desde la marca de OTC hasta el borde del otolito y D = días en libertad (Figura 2). La pendiente de esta línea no es significativamente diferente de 1 ($t = 1,25$, g.l. = 29, $p > 0,05$), ni tampoco es el intercepto significativamente diferente de 0 ($t = 10,22$, g.l. = 29, $p > 0,05$). El intervalo de confianza de 95% alrededor del coeficiente de regresión es 0,986–1,000. Los resultados señalan que atunes aleta azul de este rango de talla (19 a 68 cm) producen microincrementos a intervalos diarios, y que los criterios adoptados para la identificación de estos microincrementos son válidos.

Se contó el número total de microincrementos, desde el primordio hasta la punta del postrostro, en otolitos tomados primordialmente de peces no inyectados capturados en el Océano Pacífico oriental, para estimar su edad y comparar estas estimaciones con aquellas calculadas a partir de otras partes duras. Los resultados del estudio de la morfología de los otolitos con microscopio electrónico de barrida fueron usados para elaborar criterios que minimizarían aquellos efectos de la morfología que incrementan el sesgo de conteo y reducen la exactitud. Los resultados fueron los siguientes:

1. HCl es un agente de grabado severo (Figura 3), pero es mejor para el grabado superficial que GA o EDTA porque los microincrementos son más fáciles de discernir cuando se usa HCl.

2. Las áreas que no parecen contener microincrementos (Figura 4) en realidad sí los contienen, y la cantidad debe ser interpolada de áreas adyacentes.

3. Ocurre oclusión de microincrementos (Figura 5), y se debería tomar en cuenta cuando se identifique. Es quizá imposible en cortes seccionales, pero tal vez sea posible en preparaciones superficiales si se realiza la barrida lateralmente.

4. Hay presentes microincrementos subdiarios (Figura 6), pero pueden ser distinguidos de los diarios porque no están tan bien definidos como éstos.

Usando estos resultados, más la experiencia del experimento de tasas de deposición, los otolitos de una submuestra de 15 peces de entre 20 y 159 cm de talla fueron replicados, y los microincrementos contados (Tabla 3). Se estimó el mes de cría a partir de la fecha de captura y estimaciones de edad basadas en conteos de los microincrementos diarios. Se ha determinado previamente que el desove ocurre entre Taiwan y Kyushu, generalmente en mayo y junio, y en alta mar frente al sur de Honshu en julio (Yabe *et al.*, 1966), y también en el Mar de Japón en agosto (Okiyama, 1974; Nishikawa *et al.*, 1985). También es evidente que ocurre un desove a fines de verano, dada la presencia de aletas azules juveniles (de 22 a 26 cm) cerca de Himi en el litoral del Mar de Japón entre octubre y diciembre (Morita, 1984). Las estimaciones de edad (Tabla 3) obtenidas de los conteos de microincrementos diarios en los otolitos indican que el desove de estos peces ocurrió principalmente entre marzo y agosto, período que coincide con la ocurrencia de larvas. Podría también ser significativo que todos los peces en la muestra menos uno fueron capturados en el Pacífico oriental. Es posible que la migración al Pacífico oriental sea más probable para peces criados en la segunda mitad del año, causando sesgos en la distribución estimada de las fechas de cría para todos los peces combinados.

A fin de investigar la posibilidad de que microincrementos estrechos estuviesen causando conteos bajos, se comparó el ancho de microincrementos de atunes aleta azul grandes con los límites de resolución de estudios anteriores. No se pueden discernir microincrementos de menos de $0,8 \mu\text{m}$ en imágenes filmadas en vídeo por un microscopio de luz en secciones de otolitos de sardina, *Sardinops sagax* (John L. Butler, U.S. National Marine Fisheries Service, La Jolla, California, com. pers.). Aunque bastante variable, los microincrementos de aletas azules de 5 ó 6 años de edad parecen tener un ancho de alrededor de $1 \mu\text{m}$, dimensión que se acerca a los límites prácticos de resolución para el microscopio empleado. Usando un microscopio electrónico de barrida, Radtke (1984) descubrió microincrementos de hasta $0,3 \mu\text{m}$ de ancho distales al décimo anillo en otolitos de aleta azul del Atlántico. Los otolitos de peces mayores en el presente estudio parecen ser morfológicamente similares a aquellos analizados por Radtke (1984), y difíciles de interpretar. Determinar la edad de una albacora grande (120 queños para leer de una réplica (Alex Wild, Comisión Interamericana del Atún Tropical, La Jolla, California, com. pers.). El

uso de microscopía electrónica de barrida es probablemente impráctico en la actualidad, como concluyó Radtke (1984). Probablemente los microincrementos estrechos no se replican tan bien como los más anchos. Wild (1986), empero, pudo leer réplicas de otolitos de atunes aleta amarilla de hasta 167 cm de talla y 4,8 años de edad con un microscopio de luz.

Vérttebras

La relación

$$L = 3,73 + 6,35VR,$$

donde L = talla del pez en centímetros y VR = radio de la vértebra en milímetros, fue ajustada a los datos de talla (Tabla 2) y radios de las vértebras de los 31 peces marcados con OTC. Esta relación puede ser usada para estimar la talla de los peces en el momento de formación del anillo.

Los cuatro últimos peces en la Tabla 2 fueron recapturados en 1982. Todos tenían un solo anillo, formado aparentemente durante el invierno de 1981-1982 (Figura 7). Se calcularon estimaciones de la talla en el momento de formación del anillo (Tabla 4) para estos peces con la ecuación

$$L_{ann} = \frac{r_1}{r_{edge}} (DL - a) + a + L_{release},$$

donde L_{ann} = talla en centímetros de los peces en el momento de formación del anillo, r_1 = distancia en milímetros desde la marca de OTC hasta el anillo, r_{edge} = distancia en milímetros desde la marca de OTC hasta el borde de la vértebra, DL = crecimiento en talla en milímetros entre marcado y recaptura, $a = 3,73$ (= intercepto y de la ecuación talla-radio de la vértebra para los peces con OTC), y $L_{release}$ = talla en centímetros en el momento de liberación. La talla media de los cuatro aletas azules inyectados con OTC en el momento de formación del primer anillo fue 41 cm. La talla media de los aletas azules inyectados con OTC recapturados en diciembre (sin anillos) fue 40,8 cm.

Se estimaron las fechas de formación de los anillos a partir de una regresión de días en libertad sobre distancia entre la marca de OTC y el borde de la vértebra. La relación resultante

$$D = 191,0 + 59,3V,$$

donde D = días en libertad y V = distancia entre la marca de OTC y el borde de la vértebra, fue usada para estimar cuántos días después del marcado se formó el anillo. Los datos en la Tabla 3 y la Figura 7 indican que los anillos fueron formados en las vértebras de los peces marcados con OTC entre fines de enero y mediados de marzo (promedio alrededor del 17 de febrero).

Científicos del Far Seas Fisheries Research Laboratory (ahora el National Research Institute of Far Seas Fisheries) en Shimizu (Japón) y la CIAT marcaron aletas azules frente a Japón entre 1980 y 1985. Fueron analizadas las vértebras de una porción de esos peces recapturados en el Océano Pacífico oriental para determinar si las estimaciones del número de anillos formados concordaba con aquellas obtenidas de los cuatro peces marcados con OTC recapturados en el Pacífico oriental de los que se obtuvieron vértebras. Los aletas azules marcados frente al sur de Kyushu en enero-abril de 1980 estaban formando un anillo. Ya que fueron recapturados unos 18 meses más tarde, se esperaría el primer anillo, más aquel formado en el invierno del segundo año, para un total de dos. Los datos de recaptura (Tabla 5) respaldan esta hipótesis, lo cual confirma el resultado obtenido de los peces marcados con OTC de que el atún aleta azul forma un anillo por año.

Pese a que se forma solamente un anillo cada año, un aleta azul con un anillo podría tener entre seis meses y un año de edad, suponiendo que la cría no tuvo lugar hasta agosto y el anillo se formó en febrero. Un anillo recién formado podría no ser detectado. Sin embargo, se puede suponer que un pez

capturado en invierno con un margen ancho afuera del anillo distal está casi a punto de formar otro, y que uno con un margen estrecho en ese lugar acaba de formar el anillo distal.

Fueron procesadas vértebras de 232 aletas azules no inyectados muestreados de la captura del Pacífico oriental, y se midió la distancia desde el foco a cada anillo, a fin de estimar la talla de los peces al momento de formación de los anillos (Smith, 1983). Puesto que un gráfico (Figura 9) de talla de los peces como función del radio de las vértebras señaló un incremento de la varianza con un aumento del radio, se ajustó a los datos un modelo de regresión lineal ponderado por el inverso de la varianza, con la ecuación resultante

$$L = 64,1 + 62,8VR,$$

donde L = talla del pez en milímetros y VR = radio de la vértebra en milímetros. La desviación estándar del intercepto y la pendiente fueron 9,7 y 0,9, respectivamente. La variación en las relaciones cuerpo:partes duras podría deberse a una variación dentro de la cohorte (diferencias en el crecimiento de peces individuales), entre cohortes (diferencias en la abundancia de alimento, etcétera), o ambos. El crecimiento direccional en la vértebras podría ser afectado por la temporada (es decir, los peces mayores en una cohorte podrían presentar una relación cuerpo:partes duras diferente a aquella de los peces más jóvenes porque peces de ciertos tamaños ocurren en distintos momentos de la temporada de crecimiento). Se estimó la talla de formación de anillo para 232 peces a partir del radio de las vértebras hasta el último anillo formado (Tablas 6 y 7). Las modas de frecuencia de talla de peces de distintas edades se solapan considerablemente, pero es posible que ésto se deba a que los peces fueran muestreados durante un período de 6 meses, y no al mismo momento del año.

Escamas

No se descubrieron marcas de OTC en escamas observadas bajo las mismas condiciones que los otolitos y las vértebras. Por consiguiente, no se calculó una estimación independiente de la tasa de deposición. La ausencia de marcas de OTC en las escamas de atunes aleta azul fue inesperada, dado que se ha logrado marcar las escamas de otras especies de peces con OTC (Weber y Ridgway, 1967).

Se basaron los criterios para la identificación de anillos en las descripciones de Koski (1967) y Bagenal y Tesch (1978). Los anillos en las escamas de atunes aleta azul fueron identificados por el "entrecruzado" de los círculos en el campo lateral de la escama y aglomeración de aquellos en el campo posterior. Se forman anillos falsos en los bordes de un centro abultado, y aparecen como líneas oscuras (Koski, 1967). Las escamas regeneradas fueron fácilmente identificadas por grandes huecos en su centro. Koski (1967) supuso que los anillos fueron formados en las escamas entre enero y junio, y usó el punto medio (1º de abril) como la fecha en la cual los peces cambian de edad. Yukinawa y Yabuta (1967), que realizaron un análisis de incrementos marginales de las escamas, estimaron que el anillo se forma en abril con una talla de unos 52 cm. Sin embargo, ya que los anillos necesitan estar suficientemente alejados del borde para permitir discernirlos, el análisis de incrementos marginales podría arrojar una fecha estimada de formación del anillo posterior a la real.

El muestreo de escamas de 130 aletas azules capturados en el Océano Pacífico oriental en 1980 produjo escamas legibles de 95 peces. La relación cuerpo:escama fue débil y no significativa ($r^2 = 0,01$), debido probablemente a que muchas de las escamas fueron tomadas de áreas aparte de la preferida. Por consiguiente, no se intentó estimar la talla de los peces en el momento de formación de los anillos. Las frecuencias de talla de los peces de distintas edades se solapan considerablemente (Tabla 8), resultado obtenido también por Schultze y Collins (1977). Esto se debe, al menos parcialmente, a un muestreo realizado durante un período de varios meses, y no en uno más corto, y a variación en el crecimiento de peces individuales, pero es también posible que los anillos no se formen anualmente. Las estima-

ciones de la edad calculadas a partir de las escamas parecen ser menos confiables que aquellas basadas en otolitos o vértebras.

Espinas

No fueron encontradas marcas de OTC en espinas observadas bajo las mismas condiciones que los otolitos y las vértebras. Es posible que las marcas en las espinas hayan sido destruidas por resorpción del centro de la espina, de la misma forma que la evidencia del crecimiento temprano (ver más adelante). Al igual que con las escamas, la falta de una tasa de deposición validada reduce la confiabilidad de la determinación de la edad, y por consiguiente de las estimaciones de las tasas de crecimiento derivadas con este método.

La primera espina dorsal de cada uno de 150 atunes aleta azul capturados en el Océano Pacífico oriental en 1980 fue examinada para descubrir marcas naturales. Compeán-Jiménez y Bard (1983) descubrieron que el aleta azul en el Atlántico deposita dos marcas por año, y Hedgepeth y Jolley (1983) demostraron que otros peces grandes pelágicos, entre ellos los escómbridos, también presentan bandas múltiples. Compeán-Jiménez y Bard (1983) demostraron que las marcas cerca del centro de la espina fueron borradas por vascularización al envejecer los peces, lo cual parece también valer para el aleta azul del Océano Pacífico. Se reportó destrucción de marcas en las espinas dorsales en peces vela, *Istiophorus platypterus* (Prince *et al.*, 1986), atunes barrilete (Antoine *et al.*, 1983), y bacoretas, *Euthynnus alletteratus* (Cayré y Diouf, 1983). Es posible que las espinas participen en el metabolismo total de calcio de los peces (Simkis, 1974), ya que el registro de crecimiento en peces mayores no es continuo, tras la deposición de lo que parece ser un registro continuo en peces más jóvenes. Compeán-Jiménez y Bard (1983) estimaron la edad de peces mayores a partir del diámetro de los anillos, usando datos sobre los diámetros de anillos grandes y medianos de peces mayores y anillos pequeños y medianos de peces jóvenes. Usando un procedimiento similar, y suponiendo que se forma una marca doble cada año, se estimó la edad de 143 peces capturados en el Océano Pacífico oriental (Tabla 8). Ya que no se estableció definitivamente una tasa de deposición en el experimento de OTC, estas estimaciones son solamente provisionales.

Comparación de métodos

Precisión y sesgo en las estimaciones de edad son importantes, puesto que afectan las estimaciones de los parámetros de crecimiento que, a su vez, determinan los resultados de la evaluación de stocks. Powers (1983) realizó una simulación de Monte Carlo para estimar los parámetros de mortalidad y crecimiento de la ecuación de von Bertalanffy como función de edad, medida con varios grados de error aleatorio y sistemático, seleccionando los parámetros para imitar el crecimiento de peces pelágicos grandes como el atún aleta azul. La simulación demostró que errores aleatorios en la determinación de la edad produjeron estimaciones sesgadas de K y L_{∞} (parámetros de la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy), especialmente con muestras pequeñas y medianas. Declaró que el sesgo en la determinación de la edad debería ser menos de 10%, ya que si es mayor "probablemente no vale la pena si la técnica dificulta la producción de grandes muestras de edad determinada." Cuando la precisión alcanza un nivel aceptable, se debería enfocar el esfuerzo en reducir la duración del procesamiento, a fin de incrementar el tamaño de la muestra. Teniendo esto en cuenta, se compararon los varios métodos de estimar la edad de los peces a partir de partes duras para determinar sus aspectos prácticos y precisión.

Precisión

La estimación de la precisión de un método, es decir, la reproducibilidad de los resultados, fue considerada por Beamish y Cuatronier (1981) y Chang (1982). En ambos casos el coeficiente de variación (desviación estándar/promedio) sustituye al error porcentual medio, y

$$D = CV \times (\sqrt{R})^{-1}$$

donde D = índice de precisión, CV = coeficiente de variación, y R = número de veces que se determinó la edad de cada pez. En la Tabla 9 se detallan las estimaciones de CV y D para las distintas partes duras.

En un informe previo que evalúa la precisión de conteos de "zonas internas" o "bandas" en las vértebras de aletas azules, Prince *et al.* (1985) lograron un grado de precisión más elevado (CV promedio = 0,004 y D promedio = 0,0154 para dos lectores, en comparación con promedios de 0,0636 y 0,0212, respectivamente, en este estudio) para conteos de vértebras enteras de aletas azules del Atlántico de talla similar.

Comparación de conteos entre lectores

Aunque el índice de precisión mide la repetibilidad de datos producidos por un solo lector, una segunda lectura, realizada preferiblemente por una persona experimentada, reduce la posibilidad de sesgos no detectados. El análisis de un conjunto de 25 estimaciones de edad basadas en vértebras por el autor de este informe y otro lector experimentado demostró una alta correlación entre lectores para peces de 0 a 7 años de edad (prueba de correlación por rangos de Spearman ($r_s = 0,927$, g.l. = 25, $p < 0,001$). Además, conteos repetidos para todas las edades no fueron significativamente diferentes (prueba de t de muestras emparejadas (Zar, 1974) ($t = 0,484$, g.l. = 15, $p > 0,05$)).

Comparación de estimaciones de edad basadas en otolitos y vértebras

Una comparación de estimaciones de edad basadas en otolitos y vértebras de un solo pez, usando una prueba de t de muestras emparejadas, no indicó ninguna diferencia entre las estimaciones ($t = 0,201$, g.l. = 14, $p > 0,05$) correspondientes a 15 peces de entre 0 y 7 años de edad. Sin embargo, reconociendo el tamaño limitado de la muestra y la tendencia hacia subestimación del análisis de los otolitos (Figura 8), se deben considerar con reservas las estimaciones basadas en otolitos de peces de más de unos 4 años de edad.

Estimaciones de parámetros de crecimiento basadas en vértebras

Se estimaron tasas de crecimiento para aletas azules en el Pacífico oriental a partir de análisis de datos de marcado, datos de frecuencia de talla, y el número de anillos en las vértebras (Tablas 10, 11, y 12). Aletas azules marcadas con marcas exteriores pero no con OTC liberados y recapturados durante su primer año de vida crecieron en promedio entre 5,6 y 10,6 cm/mes (Tabla 10). Bayliff *et al.* (1991) estimaron el crecimiento de peces de talla mayor que unos 564 mm en 0,709 mm/día, o 2,13 cm/mes. Koski (1967) y Bayliff (1993) estudiaron datos de frecuencia de talla correspondientes a atunes aleta azul capturados en el Océano Pacífico oriental durante 1963–1965, y durante la mayoría de los años del período de 1952–1991, respectivamente. Ambos descubrieron que el crecimiento era más rápido en verano que en invierno. Koski estimó la tasa de crecimiento en verano en unos 3,25 cm/mes, y Bayliff en 3,67, 3,22, y 3,50 cm/mes para peces de edad 1, 2, y 3, respectivamente. En la Tabla 11 se presentan datos sobre las tallas a las cuales ocurrieron modas mayores durante 1981, 1982, y 1983. Estos datos indican que la tasa media de crecimiento en verano durante 1981, 1982, y 1983 fue 3,11 cm/mes, valor cercano a las estimaciones de Koski (1967) y Bayliff (1993). Koski indicó que la tasa anual de crecimiento es de unos 1,73 cm/mes ó 20,8 cm/año, mientras que Bayliff obtuvo una estimación de 0,677 mm/día, equivalente a 2,03 cm/mes ó 24,7 cm/año.

Se usó el método de Lee (Carlander, 1981) para el retrocálculo de la talla de los peces a partir del radio de las vértebras para estimar la talla en el momento de formación del anillo en 232 peces capturados en el Océano Pacífico oriental (Figura 10). En la Tabla 12 se detallan las tasas medias de crecimiento correspondientes a varios intervalos. Un análisis de falta de ajuste (Draper y Smith, 1966) indicó que un modelo lineal no es apropiado ($F = 1,88$, g.l. = 178, 53, $p < 0,01$) para la caracterización de los datos. Se ejecutó con los datos un programa de computadora que ajusta las funciones de von Bertalanffy,

Gompertz, y varias formas de la de Richards (subrutina escrita para BMDPAR (Dixon, 1981), un programa de regresión de cuadrados mínimos no lineal y sin derivados). Las sumas de cuadrados fueron más o menos iguales para las funciones de Gompertz y Richards, pero mucho mayores para la función de von Bertalanffy. Se seleccionó provisionalmente el modelo de Gompertz como el más realista, ya que no es aconsejable usar un modelo con más parámetros cuando la relación es inestable con uno con menos parámetros. Se realizaron análisis de sensibilidad en los cuales se fijó K y se calcularon las sumas de cuadrados de las desviaciones de los valores esperados para distintos valores de L_{∞} , y se fijó L_{∞} y se calcularon las sumas de cuadrados de las desviaciones de los valores esperados para distintos valores de K . A continuación se dividieron las sumas de cuadrados por las sumas mínimas de cuadrados para arrojar cocientes para las distintas combinaciones de K y L_{∞} . Parejas de K y L_{∞} de valores muy diferentes arrojaron sumas de cuadrados casi iguales (Figura 11), indicando que las estimaciones de estos parámetros son insuficientemente determinadas por este método. Esto se debe probablemente a una escasez de datos de peces mayores. Las estimaciones de L_{∞} superan por mucho cualquier talla máxima registrada para aletas azules, debido probablemente a que las muestras a las cuales se ajustó la curva se basaban en peces relativamente jóvenes y de crecimiento rápido de la porción de la curva debajo del punto de inflexión verdadero, t^* . Ya que K está autocorrelacionado con, y es sensible a, cambios en L_{∞} , la curva causaría sesgos en un modelo de evaluación de stocks con estructura de edades, especialmente para las clases de edad mayores a aquellas muestreadas en este estudio. Según Powers (1983), estos sesgos son consistentes en dirección para K , pero no para L_{∞} . Por estos motivos, no se detallan los parámetros del modelo, ni tampoco se comparan con aquellos obtenidos en otros estudios.

CONCLUSIONES

La edad de los aletas azules no puede ser determinada con rapidez y precisión con ninguna de las partes duras estudiadas. El análisis de las vértebras brinda la mejor combinación de rapidez, precisión, y exactitud para uso rutinario. Se pueden usar los otolitos cuando se desee una estimación muy exacta de la edad de peces jóvenes, pero el análisis es demasiado pesado y las estimaciones son probablemente inexactas para peces de más de 4 años de edad.

Otolitos

No han sido usados hasta ahora los otolitos para determinar la edad de aletas azules del Océano Pacífico. Estimaciones de la edad de aletas azules obtenidas del conteo de microincrementos diarios en los otolitos usando réplicas en acetato y microscopía de luz son exactas hasta la edad de unos 4 años. Sin embargo, es posible que se subestime la edad de peces de mayor edad, puesto que los microincrementos son demasiado estrechos para contar con esta técnica. Los anillos son difíciles de identificar en peces de menos de 9 años de edad (Hurley e Iles, 1983; Lee *et al.*, 1983). Exige muchísimo tiempo la colección, preparación, y lectura de los otolitos, y no sería práctico usarlos para la determinación rutinaria de la composición por edad de la captura. No obstante, los microincrementos diarios son útiles para la verificación de estimaciones derivadas del examen de otras partes duras. Este método sería probablemente excelente para determinar la edad de aletas azules postlarvales y juveniles.

Vértebras

No han sido usadas hasta ahora las vértebras para determinar la edad de aletas azules del Pacífico oriental. Es fácil contar los anillos en las vértebras y medir la distancias entre los anillos y el foco. Tal como indica el índice de precisión, lecturas realizadas por distintas personas suelen concordar.

Escamas

El experimento de OTC no estableció marcas en las escamas para la determinación de la tasa de deposición, y su uso es por lo tanto provisional. Las escamas pueden ser coleccionadas, procesadas, y leídas con bastante rapidez, haciéndolas útiles para la determinación rutinaria de la composición por edades de la captura (Schultze y Collins, 1977). Sin embargo, las escamas de muchas áreas del cuerpo de los peces son ilegibles. Además, pescado almacenado en salmuera en las bodegas de un barco durante períodos extendidos suele perder las escamas. La pobreza de la relación cuerpo:escama impide el retrocálculo de la talla a edad. El coeficiente de variación e índice de precisión de las estimaciones de la edad basadas en escamas fueron considerablemente mayores que los valores correspondientes para las vértebras.

Espinas

La resorción o vascularización del centro de la espina destruye la evidencia de crecimiento temprano, inutilizando este método casi por completo para la estimación independiente rutinaria de la edad de los aletas azules.

RECONOCIMIENTOS

Quisiera expresar mi agradecimiento a Alex Wild, William H. Bayliff, y Patrick K. Tomlinson, de la CIAT, por su valiosa ayuda y aportes al proyecto. El manuscrito fue revisado por Richard B. Deriso, Kurt M. Schaefer, Eric D. Forsbergh, y Nicolás J. Webb, de la CIAT, Eric D. Prince, del U.S. National Marine Fisheries Service (NMFS), Gregor M. Caillett, del Moss Landing Marine Laboratory, y Charles A. Wilson, del Center for Coastal, Energy, and Environmental Resources de la Universidad Estatal de Louisiana. Norman W. Bartoo y Nancy C. H. Lo, del NMFS, y David A. Farris y Thomas A. Ebert, de la Universidad Estatal de San Diego, ayudaron de varias maneras, y les agradezco mucho su ayuda. Quisiera agradecer la ayuda proporcionada en la verificación de los conteos por Robert N. Nishimoto y Dennis W. Lee, del NMFS, y Shayne MacLellan, del Pacific Biological Station en Nanaimo, B.C. (Canadá). Reconozco con gratitud la ayuda del personal de la CIAT, especialmente Nannette Clark, Kenneth R. Feng (q.e.p.d.), Suechi Oshita (q.e.p.d.), Kurt M. Schaefer, y Vaughn M. Silva, en la colección de muestras, y Edward H. Everett, James N. Ianelli, y Vernon P. Scholey por realizar el muestreo en el Japón. Reconozco asimismo la cooperación de numerosos patrones de pesca, armadores, y empleados de las enlatadoras, al permitirnos llevar a cabo el muestreo del pescado.

LITERATURE CITED—LITERATURA CITADA

- Aikawa, H. and M. Kato. 1938. Age determinations of fish. I. Japan. Soc. Sci. Fish., Bull., 7 (1):79–88 (translation by Van Campen, W. G., 1950, U.S. Fish Wild. Serv., Spec. Sci. Rep. Fish., 21:22pp).
- Antoine, L. M., J. J. Mendoza, and P. M. Cayré. 1983. Progress of age and growth assessment of Atlantic skipjack tuna, *Euthynnus pelamis*, from dorsal fin spines. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:91–97.
- Bagenal, T. B. and F. W. Tesch. 1978. Age and growth, *In* Bagenal, T. B. (ed.) Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters. IBP Handbook No. 3, Third ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford:101–136.
- Bayliff, W. H. 1980. A synopsis of biological data on the bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758) in the Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Spec. Rep., 2:261–293.
- Bayliff, W. H. 1993. Growth and age composition of northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, caught in the eastern Pacific Ocean, as estimated from length-frequency data, with comments on trans-Pacific migrations. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull., 20(9):501–540.
- Bayliff, W. H. and T. P. Calkins. 1979. Information pertinent to stock assessment of northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Internal Report, 12:78pp.
- Bayliff, W. H., Y. Ishizuka, and R. B. Deriso. 1991. Growth, movement, and attrition of northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Pacific Ocean as determined by tagging. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull., 20(1):1–93.
- Beamish, R. J. and D. A. Fournier. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38(8):982–983.
- Bell, R. R. 1963. Preliminary age determination of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. Calif. Fish and Game, 49(4):307.
- Berry, F. H., D. W. Lee, and A. R. Bertolino. 1977. Progress in Atlantic bluefin tuna ageing attempts. Int. Comm. Cons. Atl. Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap., 6(2):305–317.
- Brothers, E. B., E. D. Prince, and D. W. Lee. 1983. Age and growth of young-of-the-year bluefin tuna *Thunnus thynnus* from otolith microstructure. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:49–59.
- Caddy, F. J., C. A. Dickson, and M. J. H. Butler. 1976. Age and growth of giant bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) taken in Canadian waters in 1975. Fish. Res. Bd. Canada, Manag. Rep. Ser., 1395:17pp.
- Calkins, T. P. 1982. Observations on the purse-seine fishery for northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in the eastern Pacific Ocean. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull., 18(2):121–225.
- Carlander, K. D. 1981. Caution on the use of the regression method of back-calculating lengths from scale measurements. Fisheries, 6(1):2–4.
- Cayré, P. M. and T. Diouf. 1983. Estimating age and growth of little tunny, *Euthynnus alletteratus*, off the coast of Senegal, using dorsal fin spine sections. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:105–110.

- Chang, W. Y. B. 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determination. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39(8):1208–1210.
- Clay, D. (ed.). 1991. Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus* (L.)): a review. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Spec. Rep.*, 7:89–179.
- Collette, B. B. and C. E. Nauen. 1983. *FAO Species Catalogue. Vol. 2. Scombrids of the world. FAO Fish. Synop.*, 125(2):137pp.
- Compeán-Jiménez, G. and F. X. Bard. 1980. Utilisation de la squelettochronologie chez les thunnides. *Extrait du Bulletin de la Société Zoologique de France*, 105(2):329–336.
- Cort, J. L. 1990. Biología y pesca del atún rojo, *Thunnus thynnus* (L.), del Mar Cantábrico. *Inst. Español Ocean., Pub. Esp.*, 4:272pp.
- Davis, T. 1991. Maturation and spawning. *In* Caton, A. E. (ed.), *Review of aspects of southern bluefin tuna biology, population and fisheries. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Spec. Rep.*, 7:225–229.
- Dixon, W. J. 1981. *BMDP Statistical Software. Univ. of California Press. Berkeley*:725pp.
- Draper, N. R. and H. Smith. 1966. *Applied Regression Analysis. John Wiley and Sons, New York*:407pp.
- Foreman, T. J. and Y. Ishizuka. 1990. Giant bluefin tuna off southern California, with a new size record. *Calif. Fish and Game*, 76(3):181–186.
- Galtsoff, P. S. 1952. Staining of growth rings in the vertebrae of tuna (*Thunnus thynnus*). *Copeia*, 2:103–105.
- Gibbs, R. H., Jr., and B. B. Collette. 1967. Comparative anatomy and systematics of the tunas, genus *Thunnus*. *Fish. Bull., U.S.*, 66(1):65–130.
- Haake, P. W., C. A. Wilson, and J. M. Dean. 1982. A technique for the examination of otoliths by SEM with application to larval fishes. *In* C. F. Bryan, J. V. Conner, and F. M. Truesdale (eds.) *Proceedings of the Fifth Annual Larval Fish Conference, Louisiana State University Printing Office, Baton Rouge, Louisiana*:12–15.
- Hanan, D. A. 1983. Review and analysis of the bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, fishery in the eastern north Pacific Ocean. *Fish. Bull., U.S.*, 81(1):107–119.
- Harada, T. 1980. Development and future outlook of studies on the aquaculture of tunas. *Maguro Gyogyo Kyogikai Gijiroku, Suisancho-Enyo Suisan Kenkyusho (Proceedings of the Tuna Fishery Research Conference, Japan Fisheries Agency-Far Seas Fisheries Research Laboratory)*:50–58.
- Hedgepeth, M. Y. and J. W. Jolley, Jr. 1983. Age and growth of sailfish, *Istiophorus platypterus*, using cross sections from the fourth dorsal fin spine. *U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS* 8:131–135.
- Hirota, H., M. Morita, and N. Taniguchi. 1976. An instance of maturation of 3 full years old bluefin tuna cultured in the floating net. *Japan. Soc. Sci. Fish., Bull.*, 42(8):939.
- Hurley, P. C. F. and T. D. Iles. 1983. Age and growth estimation of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, using otoliths. *U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS* 8:71–75.
- Koski, R. T. 1967. Age and growth determinations of bluefin tuna in the north Pacific Ocean. *Calif. State Coll., Long Beach, M.A. thesis*:51pp.

- Laurs, R. M., R. Nishimoto, and J. A. Wetherall. 1985. Frequency of increment formation on sagittae of North Pacific albacore (*Thunnus alalunga*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42(9):1552-1555.
- Lee, D. W., E. D. Prince, and M. E. Crow. 1983. Interpretation of growth bands on vertebrae and otoliths of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:61-69.
- Magnuson, J. J., B. A. Block, R. B. Deriso, J. R. Gold, W. S. Grant, T. J. Quinn II, S. B. Saila, L. Shapiro, and E. D. Stevens. 1994. An Assessment of Atlantic Bluefin Tuna. National Academy Press, Washington, D.C.:148pp.
- Morita, S. 1984. Marine Ranching Program progress report 4 (bluefin tuna). Rep. Far Seas Fish. Res. Lab., No. 4 (in Japanese).
- Nishikawa, Y., M. Honma, S. Ueyanagi, and S. Kikawa. 1985. Average distribution of larvae of oceanic species of scombroid fishes, 1956-1981. *Far Seas Fish. Res. Lab., S Series*, 12:99pp.
- Okuyama, M. 1974. Occurrence of the postlarvae of bluefin tuna *Thunnus thynnus* in the Japan Sea. *Japan Sea Reg. Res. Lab., Bull.*, 25(2):89-97.
- Pannella, G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science (Wash. D.C.)*, 173(4002):1124-1127.
- Powers, J. E. 1983. Some statistical characteristics of ageing data and their ramifications in population analysis of oceanic pelagic fishes. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:19-24.
- Prince, E. D., D. W. Lee, and J. C. Javech. 1985. Internal zonations in sections of vertebrae from Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, and their potential use in age determination. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42(5):938-946
- Prince, E. D., D. W. Lee, C. A. Wilson, and J. M. Dean. 1986. Longevity and age validation of a tag-recaptured Atlantic sailfish, *Istiophorus platypterus*, using dorsal spines and otoliths. *Fish. Bull. U.S.*, 84(3):493-502.
- Radtke, R. 1984. Scanning electron microscope evidence for yearly growth zones in giant bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) otoliths from daily increments. *Fish. Bull. U.S.*, 82(2):434-440.
- Schultze, D. L. and R. A. Collins. 1977. Age composition of California landings of bluefin tuna *Thunnus thynnus*, 1963 through 1969. *Calif. Dept. Fish Game, Mar. Res. Tech. Rep.*, 38:44pp (manuscript).
- Simkiss, K. 1974. Calcium metabolism of fish in relation to ageing. In T. B. Bagenal (ed.), *Proceedings of an International Symposium on the Ageing of Fish*. Unwin Bros. Ltd., Old Woking, Surrey, England:1-12.
- Smith, C. L. 1983. Summary of round table discussions on back calculation. U.S. Dept. Comm., NOAA Tech. Rep. NMFS 8:45-47.
- Uchiyama, J. H. and P. Struhsaker. 1981. Age and growth of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, and yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, as indicated by daily growth increments of sagittae. *Fish. Bull. U.S.*, 79(1):151-162.
- Weber, D. and G. J. Ridgway. 1967. Marking Pacific salmon with tetracycline antibiotics. *Jour. Fish. Res. Bd. Canada*, 24(4):849-865.

- Wexler, J. B. 1993. Validation of daily growth increments and estimation of growth rates of larval and early-juvenile black skipjack, *Euthynnus lineatus*, using otoliths. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull., 20(7):399-440.
- Wild, A. 1986. Growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean based on otolith increments. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull., 18(6):423-482.
- Wild, A. and T. J. Foreman. 1980. The relationship between otolith increments and time for yellowfin and skipjack tuna marked with tetracycline. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., Bull. 17(7):509-560.
- Wild, A., J. B. Wexler, and T. J. Foreman. 1995. Extended studies of increment deposition rates in otoliths of yellowfin and skipjack tunas. Bull. Mar. Sci., 57(2):555-562.
- Wilson, C. A., J. M. Dean, E. D. Prince, and D. W. Lee. 1991. An examination of sexual dimorphism in Atlantic and Pacific blue marlin using body weight, sagitta weight, and age estimates. J. Exptl. Mar. Biol. Ecol. 151(2):209-225.
- Yabe, H., S. Ueyanagi, and H. Watanabe. 1966. Studies on the early life history of bluefin tuna *Thunnus thynnus* and on the larva of the southern bluefin tuna *T. maccoyii*. Nankai Reg. Fish. Res. Lab., Rep., 23:95-129.
- Yokota, T., M. Toriyama, F. Kanai, and S. Nomura. 1961. Studies on the feeding habit of fishes. Nankai Reg. Fish. Res. Lab., Rep., 14:1-234.
- Yukinawa, M. and Y. Yabuta. 1967. Age and growth of bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (Linnaeus), in the north Pacific Ocean. Nankai Reg. Fish. Res. Lab., Rep., 25:1-18.
- Zar, J. 1974. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.:620pp.

An important part of the work of the Inter-American Tropical Tuna Commission is the prompt publication and wide distribution of its research results. The Commission publishes its results in its Bulletin and Special Report series. The Bulletins contain reports of original research carried out by members of its staff and other scientists. These are reviewed by scientists of other organizations before being accepted for publication. They are issued on an irregular basis, and the volumes are closed when they reach about 500 to 600 pages. The Special Reports contain material other than original scientific research, which is nevertheless of interest to a wide segment of the scientific community.

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

The Bulletins, Special Reports, and Annual Reports are distributed on an exchange basis to a selected list of governmental organizations, libraries, laboratories, and universities. A nominal cost is set for individuals desiring the publications. Remittances must be in advance, payable in U.S. funds to the order of the Inter-American Tropical Tuna Commission. The distribution of the Quarterly Reports is much more restricted than those of the Bulletins, Special Reports, and Annual Reports, but these may also be purchased. Requests for these publications, as well as a list of all publications, may be directed to the editor.

Some recent publications in the Bulletin series are:

Vol. 20, No. 8—\$2.00

Some observations on bigeye tuna (*Thunnus obesus*) caught by the surface and longline fisheries for tunas in the eastern Pacific Ocean by Thomas P. Calkins, Mineo Yamaguchi, and Naozumi Miyabe, 1993

Observaciones sobre el atún patudo (*Thunnus obesus*) capturado por las pesquerías atuneras palan-grera y de superficie en le Océano Pacífico oriental por Thomas P. Calkins, Mineo Yamaguchi, y Naozumi Miyabe, 1993

Vol. 20, No. 9—\$2.00

Growth and age composition of northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, caught in the eastern Pacific Ocean, as estimated from length-frequency data, with comments on trans-Pacific migrations by William H. Bayliff, 1993

Crecimiento y composición por edad del atún aleta azul del norte, *Thunnus thynnus*, capturado en el Océano Pacífico oriental, estimados a partir de datos de frecuencia de talla, con comentarios sobre migraciones transpacificas por William H. Bayliff, 1993

Vol. 21, No. 1—\$2.00

An evaluation of length-frequency sampling procedures and subsequent data analysis for purse seine-caught yellowfin tuna in the eastern Pacific Ocean by A. Wild, 1994

Una evaluación de los procedimientos de muestreo de frecuencia de talla y del análisis subsecuente de los datos de atún aleta amarilla capturado con red de cerco en el Océano Pacífico oriental por A. Wild, 1994

Editor—Redactor
William H. Bayliff

Inter-American Tropical Tuna Commission
Comisión Interamericana del Atún Tropical
Scripps Institution of Oceanography
La Jolla, California 92037-1508, U.S.A.

Price per copy—\$2.00—Precio del ejemplar

La pronta publicación y amplia distribución de los resultados de investigación forman un aspecto importante de las labores de la Comisión, la cual publica los resultados en su serie de Boletines e Informes Especiales. Los Boletines incluyen informes sobre la investigación original emprendida por los miembros del personal y otros científicos; son revisados por científicos de otras organizaciones antes de ser aceptados para la publicación. Se concluye cada volumen al llegar a unas 500 o 600 páginas, y se publican a intervalos irregulares. Los Informes Especiales contienen material aparte de investigación científica original, que es sin embargo de interés para una gran parte de la comunidad científica.

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

Los Boletines, Informes Especiales, e Informes Anuales se envían a base de intercambio a entidades gubernamentales, bibliotecas, laboratorios, y universidades seleccionadas. Se ha fijado un costo nominal para individuos que desean estas publicaciones. Se debe pagar por adelantado en moneda de los EE.UU., remitido a la Comisión Interamericana del Atún Tropical. La repartición de los Informes Trimestrales es más limitada que la de los Boletines, Informes Especiales, e Informes Anuales, pero también se pueden comprar. Se deben dirigir al Redactor los pedidos tanto de estas publicaciones como de la lista de las mismas.

Las publicaciones recientes en la serie de Boletines son: