

## 4.9 Partes duras

Muchos parámetros se consideran críticos para la evaluación y ordenación de las especies (como ya se ha detallado en este capítulo). Entre estos se encuentra la edad y la tasa de crecimiento de los peces.

Las partes duras que presentan marcas formadas a intervalos de tiempo regulares pueden servir para determinar la edad del pez. Las marcas pueden ser de temporada o anuales (macroincrementos) y presentan una banda opaca y traslúcida que puede verse con microscopio. Algunas marcas pueden ser diarias (microincrementos) y para verlas se necesita un microscopio muy potente o bien un microscopio electrónico. Los microincrementos pueden ser especialmente útiles para determinar la edad en larvas y juveniles. La formación y biomineralización de estas bandas de crecimiento dependen de muchos factores metabólicos y ambientales, incluyendo clima, migraciones, nutrición, etc.

Se recomienda usar la nomenclatura detallada en Kalish *et al.* (1995) al presentar cualquier estudio.

Se recomienda el excelente manual preparado por la CCSBT (Comisión del Atún rojo del sur) para el atún rojo del sur, disponible en:

[http://www.ccsbt.org/docs/pdf/about\\_the\\_commission/age\\_determination\\_manual.pdf](http://www.ccsbt.org/docs/pdf/about_the_commission/age_determination_manual.pdf).

### 4.9.1 Validación

Antes de poder usar los incrementos en partes duras para una rutina de determinación de la edad, deben ser validados, para lo cual se debe aplicar una técnica cuya precisión haya sido probada (Bemish y McFarlane, 1983).

La interacción de factores que influyen en la formación de bandas podría tener como resultado que éstas se formen una o dos veces al año (Ortiz de Zárate *et al.*, 1996 para el atún blanco). Por lo tanto, la periodicidad de formación de bandas ha de ser validada para asegurarse que pueden servir en una lectura correcta de la edad. Un fallo en la validación de las edades puede producir grandes errores en la evaluación de stock.

Hay una amplia gama de métodos que se pueden aplicar en la validación de bandas en partes duras. Incluyen el cálculo retrospectivo y análisis de incremento marginal. El método más concluyente es la aplicación de técnicas de marcado-recaptura, incluyendo el uso de marcadores como la oxitetraciclina (Ortiz de Zárate *et al.*, 1996). La oxitetraciclina puede inyectarse por vía intramuscular a peces capturados y marcados en unas dosis aproximadas de 70 mg/kilo de masa corporal, con una jeringuilla introducida en la zona de la aleta dorsal. La marca resultante es amarilla/oro fluorescente y puede verse por UV, y puede relacionarse con el tiempo que ha transcurrido desde la liberación y las marcas naturales que se han formado en la parte dura. Se puede también usar el cloruro de estroncio ( $\text{SrCl}_2$ ) cuando posibles problemas de salud pública descartan el uso de oxitetraciclina. Las marcas de  $\text{SrCl}_2$  en otolitos seccionados pueden verse en un microscopio electrónico con un detector de retrodispersados tipo Robinson (Clear *et al.*, 2000). Conviene asegurarse que no hay cambios en la pauta del crecimiento tras hacer este tipo de marcas.

Al presentar un estudio, es **preciso** manifestar expresamente que se ha hecho la validación. Es también necesario concretar las edades a las cuales se ha aplicado dicha validación.

### 4.9.2 Muestreo de partes duras

Se ha empleado una amplia gama de partes duras para determinar la edad de túnidos y marlines. Entre estas, los otolitos (sagittae, por ej. atún rojo), la espina/radio de la 1ª aleta dorsal (donde las espinas son por lo general duras y los radios blandos) o las espinas/radios de la aleta anal (por ej. pez espada (espinas), rabil, patudo (radios)), vértebras (por lo general del pedúnculo caudal, la vértebra nº 35, por ej. atún rojo atlántico, patudo).

Algunas estructuras son más adecuadas para una especie o edad en particular que otras. Las espinas se pueden extraer sin dañar al pez. Esto es una ventaja sobre todo cuando dado su alto precio, es necesario comprar el pez para examinar las partes duras. El pedúnculo caudal también se puede obtener sin perjuicio del proceso comercial.

Se suelen aplicar dos estrategias para el muestreo: muestreo aleatorio o muestreo por talla (en el cual se recoge un cierto número de muestras de cada grupo de talla) (apartado 4.2.2). El enfoque que se de al muestreo

dependerá del objetivo del programa. Podrían ser necesarias muestras mensuales para validar el uso de partes duras en la determinación de la edad por medio de análisis de incrementos marginales (apartado 4.9.2), mientras que un muestreo menos frecuente (incluso anual) sería el requerido para establecer claves edad-talla (apartado 4.3), o incluso menos frecuente si se trata de estimar parámetros de crecimiento global. Será necesario el muestreo de ambos sexos para identificar las tasas de crecimiento específicas del sexo.

Es preferible un programa de muestreo de tallas estratificadas, ya que asegurará un muestreo adecuado de toda la gama de tallas y mejorará las estimaciones de parámetros de crecimiento (Apartado 4.9.5) y la utilidad de ALK. Sin embargo, con frecuencia surgen problemas para obtener peces en los extremos superior e inferior de la gama de tallas. En estos casos, podría ser necesario formar un grupo superior o inferior y combinar todas las partes duras en este grupo.

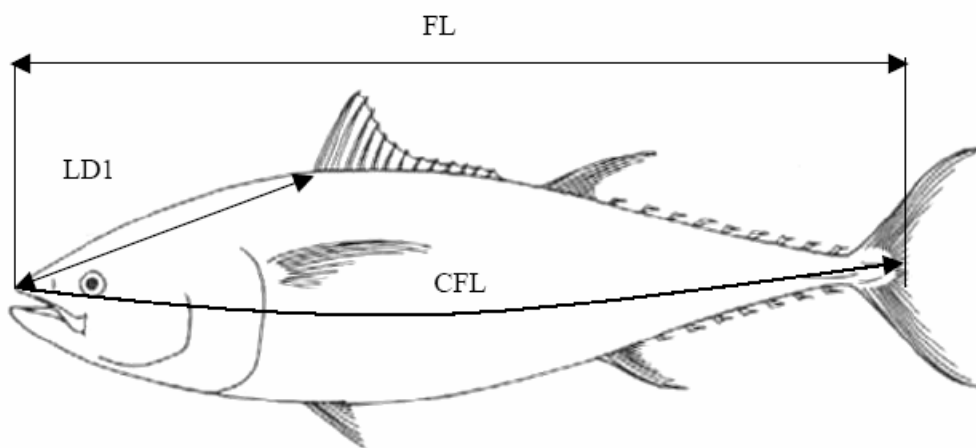
Ruiz *et al.* (2005) han presentado recomendaciones respecto al muestreo de partes duras con tallas estratificadas, de las cuales se ha tomado gran parte del texto que sigue (con autorización). Cada mes se debe obtener un cierto número de partes duras (por ej. espinas) de cada intervalo de 5cm en la gama de tallas. El muestreo debería tener lugar en días diferentes a lo largo de un mes hasta obtener el número suficiente de partes duras, para completar, en la medida de lo posible, la gama de tallas de los desembarques. Las muestras procederán de diferentes zonas de captura del stock en estudio, con el fin de incluir la mayor parte de las mismas. Por lo tanto, también se ampliarán a diferentes barcos y puertos de desembarque.

Las partes duras se obtendrán en los mismos desembarques que las muestras de talla cuando se trate de generar ALK. Si se trabaja con diferentes desembarques, se procurará que las muestras procedan de zonas/artes que ya hayan sido sujetos a mediciones de talla.

Se deberá obtener información sobre el pez del que proceden las partes duras y sobre su captura. Esta información incluye:

<i>Datos</i>	<i>Notas</i>
Especie	
Número único de identificación del pez	
Talla del ejemplar	<p>La medición más común es la longitud a la horquilla (FL). (Apartado 4.3.3). La longitud a la horquilla es la línea recta desde el extremo de la mandíbula superior (extremo del morro) a la parte posterior del radio caudal más corto (horquilla de la aleta caudal) (<b>Figura 4.9.1</b>). Esto se mide mejor por medio de un calibrador. Como alternativa se puede usar una cinta métrica, si bien <b>se debe</b> mantener bien tirante al efectuar la medición. El pez se colocará en una superficie plana en posición horizontal. Si se trata de peces muy grandes que resultan muy difíciles de medir de este modo, se tomarán en lugar de ésta las dos medidas siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Longitud a la primera dorsal (LD1): la línea recta desde el extremo de la mandíbula superior (extremo del morro) hasta la base de la primera espina dorsal (inicio de la primera aleta dorsal) (<b>Figura 4.9.1</b>).</li> <li>- Longitud a la horquilla en curva (CFL): longitud desde el extremo de la mandíbula superior (extremo del morro) hasta la horquilla por medio de una línea longitudinal imaginaria, con la correspondiente curvatura del pez (<b>Figura 4.9.1</b>).</li> </ul> <p>Se debe indicar con claridad el tipo de medición aplicado, junto con la unidad (cm). FL y CFL se miden al centímetro inferior (un ejemplar de 70.8 ó 70.2 entrarían ambos en la escala de 70 cm), LD1 se miden al medio centímetro inferior (un ejemplar de 30,4 cm se considera de 30 cm y uno de 30,7 como de 30,5 cm).</p>
Fecha de captura del ejemplar	Día, mes y año
Zona de pesca	Este es el lugar donde se obtuvo la captura de la cual procede la muestra y no se refiere al lugar donde se efectuó el muestreo. Se debe establecer una delimitación geográfica precisa. La más exacta es la latitud y la longitud donde fue capturado. Como esta información no

	está siempre disponible, en el caso de ejemplares muestreados capturados en diferentes operaciones de pesca, la latitud y longitud de la zona (entre 44° - 45°N y 5° - 7° W, por ejemplo), o bien se consignará una zona geográfica más o menos definida, tal como el Golfo de Vizcaya, Mar de Alborán, por ejemplo.
País	El país al cual corresponden las muestras, organización y personal responsable del muestreo.
Fecha de muestreo	Día, mes y año
Peso vivo y/o eviscerado del ejemplar	Kg
Sexo	Macho, hembra, desconocido
Tipo de barco y arte de pesca usado	Cerco, palangre, barco de cebo, etc.
Tipo de cardumen	Cardumen libre, asociado con DCP
Nombre del barco	Nombre del barco que capturó el pez y puerto en el cual fue descargado
Parte dura	Otolito (izquierdo, derecho, ambos), vértebra (y detalles del número de la vértebra), o espina (y número de la espina)



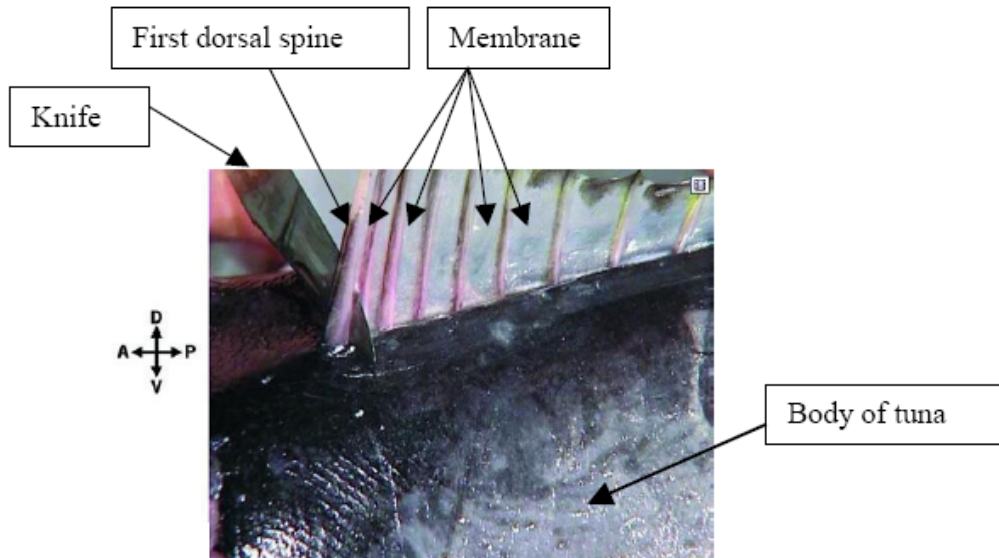
**Figura 4.9.1.** Tipos de mediciones de atún rojo: Longitud horquilla (FL), Longitud a primera dorsal (LD1), Longitud horquilla en curva (CFL) (de Ruiz *et al.*, 2005, con autorización).

Los detalles se anotarán en la hoja estadística adecuada para asegurar que el programa de muestreo ha sido completado.

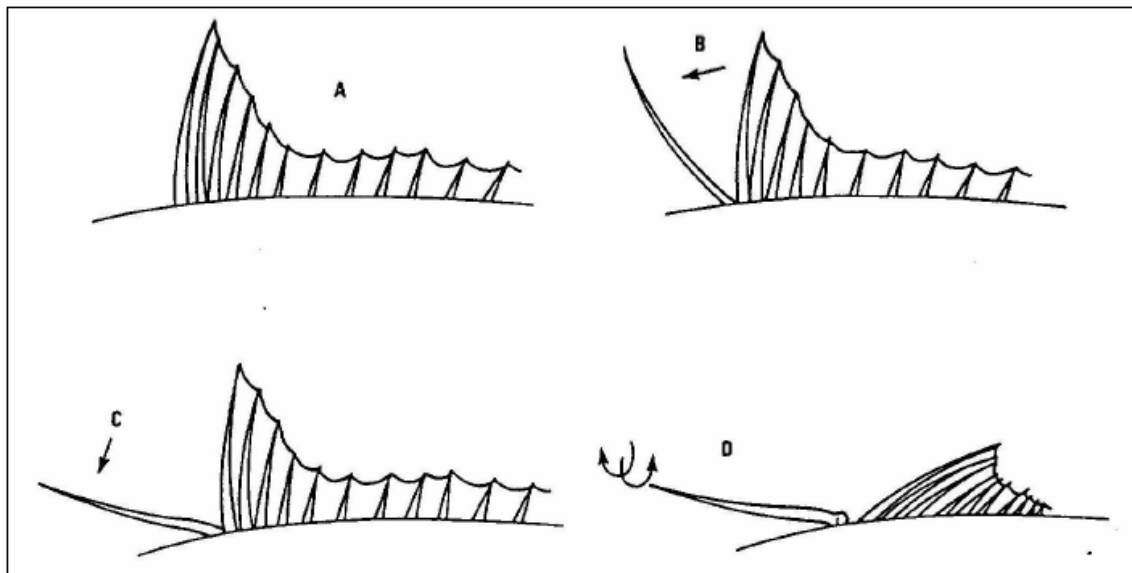
#### *Muestreo de espinas*

Se debe extraer la primera espina de la primera aleta dorsal de cada ejemplar de la especie que convenga. Se debe extraer entera desde la base.

Cortar con un cuchillo la membrana que une los primeros radios de la aleta dorsal (**Figura 4.9.2**). Empujar progresivamente la espina hacia adelante (Figura 4.9.3B) hasta que el ligamento se rompa (**Figura 4.9.3C**). Girar la espina hacia la derecha y la izquierda alternativamente hasta que se desprenda y tirar para extraerla (**Figura 4.9.3D**).



**Figura 4.9.2.** Inserción del cuchillo en la membrana que separa las dos primeras espinas de la 1ª aleta dorsal (Figura de Panfili *et al.*, 2002).



**Figura 4.9.3.** Técnica de extracción de la primera espina de la aleta dorsal del atún rojo (Figuras de Compeán-Jiménez, 1980).

Lo ideal es conservar las espinas en seco en un sobre de papel que se mantendrá en un lugar frío (o sea, refrigerado). Si la espina es demasiado grande para meterla en un sobre, se puede cortar por la mitad o incluso en tres partes y después introducirla en el sobre, teniendo en cuenta que la pieza que forma la base de la espina es la más importante ya que es la que sirve para interpretar la edad. La fecha de obtención de la muestra con su código correspondiente debe figurar en el sobre.

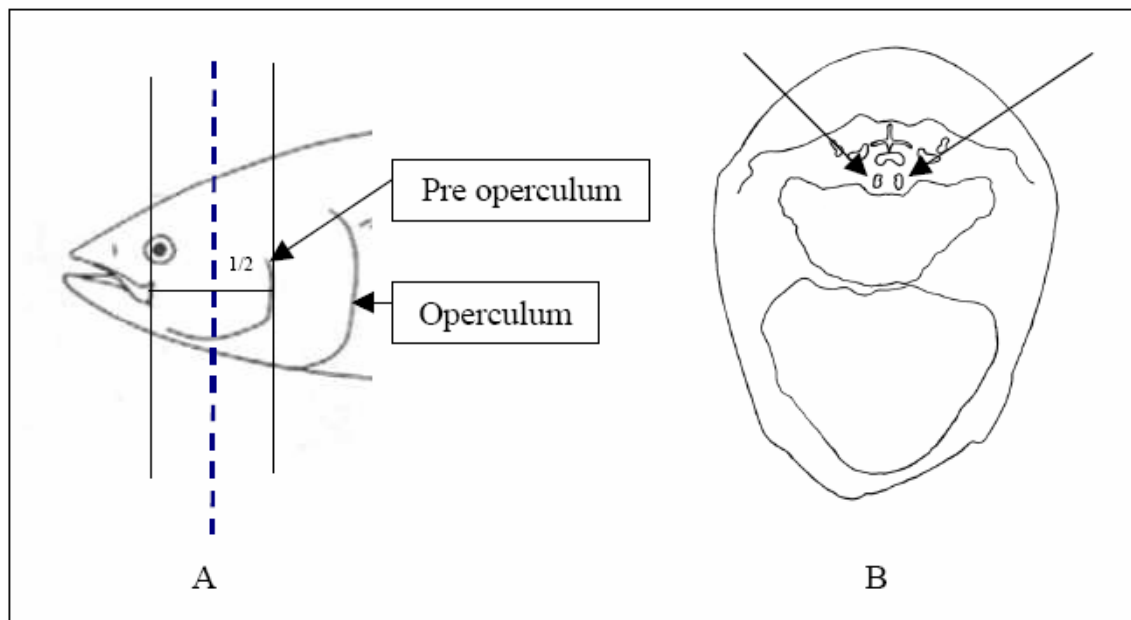
#### *Muestreo de otolitos*

Los otolitos sagitales son estructuras pequeñas y calcificadas que se encuentran en las cavidades semicirculares del oído interno, situadas en la base del cerebro. Se forman por acumulación de carbonato de calcio y proteína. El otolito sagital es el mayor de los tres otolitos que se encuentran en el oído interno del atún rojo.

Existen dos técnicas principales para su extracción: la sección transversal de la cabeza o la sección frontal de la cabeza. En la segunda, se efectúa una sección frontal de la parte superior del cráneo, pasando por encima del ojo y paralela al eje principal del pez. A continuación se detalla la primera de las técnicas.

La sección transversal de la cabeza consiste en hacer un corte en la zona superior de la parte trasera de la cabeza, a nivel de una línea imaginaria: trazar una línea imaginaria perpendicular al pez en posición horizontal, que pasa por en medio del punto central entre la esquina de la boca y el preopérculo (**Figura 4.9.4A**). Para ello se recomienda el uso de una regla para dividir esta distancia en dos, y después se hace un corte en la parte superior del pez siguiendo esta línea imaginaria. Una vez que se ha marcado el punto para hacer el corte, se introduce una sierra metálica en la cabeza, en forma perpendicular al eje horizontal del pez.

La parte seccionada de la cabeza contiene los otolitos. Si el corte antes descrito se ha hecho correctamente, se buscarán los otolitos en la cavidades que se encuentran debajo del cerebro en la zona superior de la cabeza (**Figura 4.9.4B**). Si no se encuentran allí, podrían estar en la otra parte del pez cortado. Por medio de unos pequeños fórceps y con gran cuidado para evitar romper estas frágiles piezas, se extraen los otolitos. Se deben sacar de una capsula muy fina y transparente que los cubre. Los otolitos tienen un tamaño entre 7 y 20 mm aproximadamente, y se deben extraer los dos otolitos de cada ejemplar. Si el otolito se rompe, se debe intentar recuperar las piezas y conservarlas juntas. Una vez extraídos, se enjuagan con agua o en alcohol diluido y se dejan secar.



**Figura 4.9.4.** A. Trazo de línea imaginaria (discontinua) a lo largo de la cual se hará el corte. B. Vista de las cavidades donde se encuentra el par de otolitos en la parte posterior de la cabeza. (de Ruiz *et al.*, 2005, con autorización)

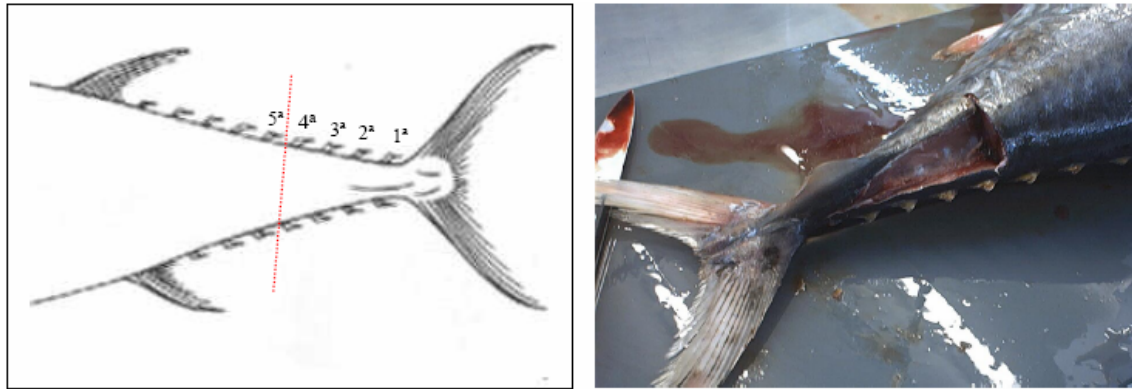
La mejor forma de almacenar los otolitos es meterlos en seco en un tubo o en un sobre. Si se utiliza un sobre se debe evitar presionarlo para no romperlos. Los datos sobre el ejemplar muestreado o bien su correspondiente código deberán figurar en el sobre o en el tubo.

#### *Vértebrales caudales*

Para estudiar el crecimiento se usa la vértebra 35 (Farber y Lee, 1981) Sin embargo, es mejor extraer las vértebras 35 y 36 sin separarlas. El tener las dos ofrece la oportunidad de comparar los métodos “todas las vértebras” y “sección de las vértebras”. Por otra parte, el almacenar las vértebras 35 y 36 juntas conserva la calidad de la superficie interior e impide la deshidratación que provoca la refrigeración. Cuando la superficie entra en contacto con el aire, se seca y resulta más difícil de leer.

Para encontrar la vértebra 35, se hace un corte transversal en la zona caudal, entre la 4ª y 5ª pínula (contando desde el extremo de la cola hacia adelante, es decir, tiene que haber 4 pínulas más detrás de la indicada). Al

hacer el corte, la vértebra 35 debe quedar visible. El corte debe coincidir con el espacio intervertebral y la cola se puede cortar con facilidad. De no ser así, el espacio intervertebral debe buscarse hacia la parte delantera del pez. La vértebra 35 es la primera vértebra en la parte seccionada y se puede separar junto con la vértebra 36 del resto de las vértebras caudales; después se lavan y se eliminan los restos de carne que queden.



**Figura 4.9.5.** Corte efectuado para buscar la vértebra 35. La foto muestra el corte transversal y la cola se ha pelado para descubrir las vértebras (marcas blancas). (de Ruiz *et al.*, 2005, con autorización)

Las dos vértebras se almacenarán juntas y no se separarán hasta haberlas analizado. Se guardarán secas en un sobre y en lugar refrigerado (siempre queda algo de carne adjunta). Las vértebras pueden almacenarse junto con la espina en el mismo sobre.

#### **4.9.3 Forma de preparar las partes duras para su lectura**

Se hace una sección transversal de la base de la espina (donde esta tiene aproximadamente la mitad de la anchura máxima de la base del cóndilo). Las secciones se montan en resina y se cortan con una sierra de baja velocidad, para obtener una rodaja fina (de unos 0,5 mm). Estas secciones se colocan sobre una platina, con resina y se aclaran durante 5 minutos en etanol al 95%, si es necesario. Después se examinan con microscopio.

Es posible leer los otolitos enteros, pero puede resultar difícil determinar la edad en otolitos de peces de edad avanzada y las edades podrían resultar subestimadas. Se recomienda cortarlos. Los otolitos se incrustan en resina de poliéster y se hace un corte transversal en el primordio con una sierra de baja velocidad. El trozo obtenido se puede colocar con resina en una platina para microscopio y se pule con la arenilla adecuada, si fuese necesario. El otolito se puede leer con un microscopio binocular.

Las vértebras se pueden cortar en rodajas finas en el plano sagital (dorso-ventral), por medio de una sierra de baja velocidad. Se colocan sobre una platina para microscopio y para que su lectura resulte más clara se añade nitrato de plata o bien se pulen y después se observan con un microscopio binocular.

#### **4.9.4 Lectura**

Con la lectura de partes duras preparadas se obtiene la edad absoluta de un pez determinado y por referencia a la talla de ese mismo pez, una edad por talla.

Las edades se establecen en relación con una “fecha de nacimiento” asignado a una especie. Esta fecha de nacimiento suele estar en relación con el periodo de desove de la especie. Cuando se establece la edad, de acuerdo con una fecha de nacimiento, no se contará un anillo anual completo hasta que dicha fecha haya pasado. Por ejemplo, si la fecha es el 1 de junio, un pez con un tercer anillo anual que se acaba de completar sería considerado como de dos años, hasta su captura el 1 de junio o en fecha posterior.

Por lo general, los encargados de la lectura no deben recibir información adicional sobre el pez (por ej. talla, fecha de captura) para evitar posibles sesgos. La fecha de captura podría ser importante a la hora de asignar una edad en torno a la fecha de nacimiento de la especie.

Se debe tener cuidado al leer las espinas, ya que su parte central puede estar vascularizada en el caso de los peces más viejos. Esto cancela las bandas de edad que se forman cuando son jóvenes. Estas bandas se han tenido en cuenta al determinar la edad por medio del cálculo retrospectivo del posible número de supuestos anillos (Lee y Yeh, 1993) o por el uso de valores facilitados en estudios anteriores (Cort, 1991, sobre atún rojo).

Una sencilla medida de la precisión de las estimaciones de edad en partes duras, de lectores múltiples, es el porcentaje medio individual de error (IAPE, Beamish y Fournier, 1981). Se puede calcular como sigue:

$$IAPE = \frac{100}{N} \sum_{j=1}^N \left[ \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - X_j|}{X_j} \right]$$

donde  $N$  es el número de peces cuya edad ha sido establecida,  $R$  es el número de lecturas,  $X_{ij}$  es la determinación de la edad  $i$  del pez  $j$ , y  $X_j$  es la edad media calculada para el pez  $j$ .

#### 4.9.5 Estimación de los parámetros de crecimiento

Los datos de talla por edad pueden ajustarse a ecuaciones de crecimiento con el fin de estimar parámetros importantes para la evaluación y ordenación de stocks. Por lo general, los datos se ajustan a una ecuación de crecimiento de von Bertalanffy. Esta ecuación satisface dos importantes criterios, se ajusta a la mayor parte de los datos observados de crecimiento de los peces y se incorpora a los modelos de evaluación de stock. La fórmula es:

$$L_t = L_\infty \left[ 1 - e^{-K(t-t_0)} \right]$$

donde  $L_t$  es la talla a la edad  $t$ ,  $L_\infty$  es la talla asintótica,  $K$  es el coeficiente de crecimiento y  $t_0$  la edad teórica para una talla cero.

Gascuel *et al.* (1992) proponían una función de crecimiento de cinco parámetros para hacer un modelo de las curvas de crecimiento de dos etapas del rabil atlántico. Este modelo combinaba una función lineal y el modelo generalizado de von Bertalanffy:

$$L_t = L_0 + bt + [L_\infty - (L_0 + bt)] [1 - e^{-Kt}]^m$$

donde  $L_t$  es la talla a la edad  $t$ ,  $L_0$  es la talla a la edad 0,  $L_\infty$  es la talla asintótica,  $K$  es el coeficiente de crecimiento,  $b$  es la tasa inicial de crecimiento, y  $m$  es un parámetro estimado.

Las ecuaciones de crecimiento se pueden ajustar a los datos de talla por edad procedentes de partes duras, aplicando métodos de mínimos cuadrados, o bien métodos de probabilidad (Kimura, 1980). En ambos casos, se deben presentar los errores estándar de los parámetros.

Se debe ser prudente al interpretar estimaciones de parámetros de crecimiento, ya que se ven fuertemente afectados por la calidad y cantidad de los datos disponibles. Se plantean ciertos problemas debido a la falta de individuos más pequeños y jóvenes a causa de la selectividad del arte, y de individuos más grandes debido a la presión pesquera histórica. El no incluir individuos más grandes y viejos reduce la información sobre el parámetro  $L_\infty$  de la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy, mientras que la falta de individuos más jóvenes reduce la información sobre el parámetro  $K$ . El resultado puede ser una gran incertidumbre, que se refleja en las evaluaciones de stock cuando se emplean estos parámetros de crecimiento.

#### 4.9.6 Claves edad-talla (ALK)

Para la creación de estas claves se precisan datos de edad y crecimiento. Su creación se describe en el apartado 4.3.6.

#### 4.9.7 Análisis de microelementos

El análisis de microelementos consiste en el examen de los elementos residuales que aparecen en otolitos (Secor y Chesney, 1998). El método se basa en dos propiedades de los otolitos: que siguen creciendo a lo largo de la

vida del pez y que, al contrario de los huesos, los otolitos son inertes en cuanto a metabolismo; el carbonato de calcio y los elementos residuales que constituyen más del 90% de la estructura del otolito, se deben sobre todo al agua de mar, modificada por la temperatura ambiente (Humphreys *et al*, 2005). Ciertos elementos se incorporan a los otolitos en proporción directa a su contacto con el agua circundante o el alimento. Por lo tanto, los peces procedentes de diferentes lugares podrían tener diferentes mezclas de elementos en sus otolitos, lo cual constituye una huella digital elemental única de zona/stock. El análisis de los microelementos de otolitos puede así contribuir a medir el número de características del ciclo vital. Puede servir para validar y para estudiar la fidelidad al hábitat, la zona de cría originaria (donde se examinan los otolitos de juveniles; Rooker *et al*, 2003), estructura del stock, tasas de migración, etc.

Magnesio (Mg), calcio (Ca), estroncio (Sr) y bario (Ba) se incorporan y permanecen en la estructura de entramados inorgánicos de los otolitos y por lo tanto pueden servir para estudiar el historial del medio ambiente. Otros elementos como el sodio (Na), azufre (S), potasio (K) y cloro (Cl), se asocian con material orgánico o espacios intersticiales, y son probablemente menos estables.

Es preciso aplicar procedimientos adecuados de descontaminación y manipulación para evitar la lixiviación de los elementos tras su extracción. La contaminación se puede producir en el curso de los procesos de disección, manipulación, almacenaje o limpieza. Los otolitos se suelen sumergir en agua muy purificada (por ej. agua doble destilada y desionizada) para hidratarlos y eliminar el tejido biológico restante. Se puede usar peróxido de hidrógeno al 3% para sumergir el otolito durante 5 minutos y disolver dicho tejido. Después se puede sumergir otros 5 minutos en ácido nítrico al 1% para limpiar la contaminación superficial y después empapararlo con agua doble destilada y desionizada 5 minutos más para eliminar el ácido. Después, el otolito se secará bajo una campana de flujo laminar. Este procedimiento ha resultado eficaz para eliminar contaminaciones de Mg, Mn y Ba, sin afectar la composición original del otolito.

La principal técnica empleada para estudiar los microelementos del otolito es la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo. Esta técnica puede hacer muestreos simultáneos de múltiples elementos con muy alta sensibilidad (límites de detección inferiores a partes por millón). El ICPSM basado en una solución requiere que el material se sumerja en una solución tras disolver el ácido.

Las proporciones de isótopos de oxígeno estable ( $\delta^{18}\text{O}:\delta^{16}\text{O}$ ) en otolitos puede servir como sustituto de la temperatura ambiente del agua. A temperaturas más altas, los otolitos contienen más del isótopo  $\delta^{16}\text{O}$  más ligero. Las proporciones de isótopos de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) pueden relacionarse con el metabolismo. Sin embargo, los factores que controlan la composición del isótopo de carbono estable ( $\delta^{13}\text{C}$ ) en otolitos son más complejos que los que controlan los isótopos de oxígeno ya que  $^{13}\text{C}$  experimenta también la influencia del metabolismo del pez y de las costumbres alimenticias. Las técnicas de muestreo a microescala en otolitos usando micromill o técnicas de ablación por láser permiten la evaluación de la información medioambiental con una alta resolución temporal con las limitaciones del espectrómetro de masas. Un muestreo preciso de otolitos usando micromill o técnicas de ablación por láser permite relacionar las pautas de temperatura con la edad y por tanto, con el ciclo vital de los peces.

#### 4.9.8 Bibliografía

- BEAMISH, R.J. and G.A. McFarlane (1983). The forgotten requirement for age validation in fisheries biology. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112, 735-743.
- CLEAR, N.P., J.S. Gunn, and A.J. Rees (2000). Direct validation of annual increments in the otoliths of juvenile southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*, by means of a large-scale mark-recapture experiment with strontium chloride. *Fish. Bull.* 98, 25-40.
- COMPEAN-JIMENEZ, G. 1980. Comparaison de techniques de détermination de l'âge chez les principales espèces de thonidés atlantiques (Tesis doctoral). Univ. Aix Marseille II, 153 pp.
- CORT, J.L. (1991). Age and growth of the bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (L.) of the northwest Atlantic. *Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 35(2): 213-230.
- FARBER, M. I. and D.W. Lee (1981). Ageing western Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, using tagging data, caudal vertebrae and otoliths. *Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 15(2): 288-301.
- GASCUEL, D., A. Fonteneau and C. Capisano (1992). Modélisation d'une croissance en deux stances chez l'albacore (*Thunnus albacares*) de l'Atlantique Est. *Aquat. Living Resour.* 5, 155-172.



- HUMPHREYS, R.L., S.E. Campana and E.E. De Martini (2005). Otolith elemental fingerprints of juvenile Pacific swordfish *Xiphias gladius*. J. Fish Biol. 66, 1660-1670.
- KALISH, J.M., R.J. Beamish, E.B. Brothers, J.M. Casselman, R.I.C.C. Francis, H. Mosegaard, J. Panfili, E.D. Prince, R.E. Thresher, C.A. Wilson and P.J. Wright (1995). Glossary for otolith studies. In Recent developments in fish otolith research. (D.H. Secor, J.M. Dean and S.E. Campana, eds.). The Bella W. Baruch library in marine sciences, USA. pp.723-729.
- KIMURA, D.K. (1980). Likelihood methods for the von Bertalanffy growth curve. Fish. Bull. 77, 765-776.
- LEE, L.K. and S.Y. Yeh (1993). Studies on the age and growth of South Atlantic albacore (*Thunnus alalunga*) specimens collected from Taiwanese longliners. Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 40(2): 354-360.
- ORTIZ DE ZARATE, V., P. Megalofonou, D. De Metrio and C. Rodriguez-Cabello (1996). Preliminary age validation results from tagged-recaptured fluorochrome label albacore in north east Atlantic. Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 43(1): 331-338.
- PANFILI, J., H. De Pontual, H. Troadec and P.J. Wright (eds.) (2002). Manual of Fish Sclerochronology. Brest, France: IFREMER-IRD co-edition, 464 p.
- PRINCE, ED., D.W. Lee, J.L. Cort, G.A. McFarlane, A. Wild (1995). Age validation evidence for two tag-recaptured Atlantic albacore, *Thunnus alalunga*, based on dorsal, anal and pectoral fin rays, vertebrae, and otoliths. In Recent developments in fish otolith research. (D.H. Secor, J.M. Dean and S.E. Campana, eds.). The Bella W Baruch library in marine sciences, USA. pp. 375-396.
- ROOKER, J.A., D.A. Secor, V.S. Zdanowicz, G. de Metrio, L. Orsi Relini (2003). Identification of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) stocks from putative nurseries using otolith chemistry. Fish. Oceanogr. 12, 75-84.
- RUIZ, M., E. Rodriguez-Marin and J. Landa. (2005). Protocol for sampling of hard parts for bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) growth studies. In: Report of the bluefin tuna direct ageing network (under the BYP framework). Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 58(4): 1403-1419.
- SECOR, D.H. and E.J. Chesney (1998). Summary of a workshop: otolith microconstituent analysis of Atlantic bluefin tuna. Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 48(1): 51-58.