## TESIS DEFENDIDA POR **Bertha Aguirre García** Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

Dr. Oscar Sosa Nishizaki Director del Comité

Dr. Benjamín Barón Sevilla Miembro del Comité M.C. Vicente Ferreira Bartrina Miembro del Comité

Dr. Axayacatl Rocha Olivares

Coordinador del programa de posgrado en Ecología Marina

Dr. David Hilario Covarrubias Rosales Director de Estudios de Posgrado

10 de noviembre de 2009

## CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA



## PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MARINA

# EDAD Y CRECIMIENTO DE LA RAYA GAVILÁN *Myliobatis californica* EN LA PARTE NORTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA.

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

> Presenta: BERTHA AGUIRRE GARCÍA

Ensenada, Baja California, México, 10 de noviembre del 2009.

**RESUMEN** de la tesis de **Bertha Aguirre García**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en Ecología Marina. Ensenada, Baja California. Noviembre 2009.

## EDAD Y CRECIMIENTO DE LA RAYA GAVILÁN *Myliobatis californica* EN LA PARTE NORTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA.

Resumen aprobado por:

Dr. Oscar Sosa Nishizaki Director de tesis

Los estudios de edad y crecimiento permiten obtener información básica sobre la historia de vida de una especie. La raya gavilán Myliobatis californica es capturada principalmente en estadios juveniles o semi-adultos en el norte del Golfo de California, región que es considerada como una importante área de reproducción y crianza de varias especies de elasmobranquios. La estimación de la edad y el crecimiento de M. californica fue realizada mediante la lectura de bandas de crecimiento en imágenes digitales de 100 vértebras de individuos que presentaron un intervalo de tallas de 380 a 1200 mm de ancho de disco (AD). Se encontró un alto coeficiente de determinación ( $R^2=0.93$ ) entre la relación de la longitud del organismo y el radio de la vértebra. El análisis del incremento marginal permitió suponer que un par de bandas de crecimiento (opaca y hialina) se forma anualmente. Las imágenes de las vértebras se analizaron ocular y digitalmente, obteniéndose una mayor precisión de lectura con el método digital (PA=72%). Se encontró un intervalo de edad entre 0 y 26 años en las hembras y entre 0 y 12 años en los machos. Los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy estimados utilizando los datos de longitud y edad retrocalculados fueron:  $AD_{\infty} = 1449.64$  mm, k=0.052 y  $t_0=-4.27$  para las hembras y AD<sub> $\infty$ </sub>= 661.37 mm, k=0.186 y  $t_0=-2.73$  para los machos. La raya gavilán M. californica del norte del Golfo de California presentó tallas máximas menores y tasas de crecimiento mayores a las reportadas en las costas de California. Estas diferencias podrían ser el resultado de las diferencias oceanográficas entre las dos zonas de estudio y la presión por pesca a la que ha estado sometida la especie en cada una de ellas.

Palabras Clave: Myliobatis californica, edad, crecimiento, vértebras.

**ABSTRACT** of the thesis presented by **Bertha Aguirre García** as a partial requirement to obtain the MASTER SCIENCE degree in Marine Ecology. Ensenada, Baja California, México. November 2009.

## AGE AND GROWTH OF THE BAT RAY Myliobatis californica FROM THE NORTHERN GULF OF CALIFORNIA.

Age and growth studies are part of the life history information of a species. The bat ray Myliobatis californica is captured mostly in juvenile stages or semi-adults in the northern Gulf of California. This region has been considered as reproduction and nursery area for many elasmobranchs species. Age and growth for M. californica were estimated from vertebral band counts in digital images from 100 rays ranging in size from 380 to 1200 mm disc width (DA). We found a high coefficient of determination ( $R^2 = 0.93$ ) in the relationship between body length and vertebral radium. The Marginal Increment Analysis suggested that a band pair of growth (opaque and hyaline) may be formed annually on the vertebral centra. Vertebral images were analyzed by ocular and digital methods, where digital age readings were more precise (PA=72%). Age ranged between 0 to 26 yrs in females and 0 to 12 yrs in males. The von Bertalanffy parameters estimated using length at age from back-calculate method were:  $AD_{\infty} = 1449.64$  mm, k = 0.052 and  $t_0 = -4.27$  for females and  $AD_{\infty} = 661.37$  mm, k = 0.186 and t<sub>0</sub> = -2.73 for males. The bat ray M. californica in the northern Gulf of California reached a lower maximum sizes and have a higher growth rates than reported in coastal California, these difference could be related to the different environmental conditions in the two study areas and their fishing exploitation rates.

Keywords: Myliobatis californica, age, growth, vertebrae.

#### DEDICATORIA

El cumplir este sueño fue por mí, pero nada se logra sola. A mi lado siempre ha estado mi familia, su apoyo incondicional a pesar de la distancia me dio la fuerza para lograrlo.

A mis Padres BERTHA y BLAS A mis hermanos y hermana BLAS, SERGIO y CARMEN y a mis sobrinos ULISES y HARRY

#### AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por el otorgamiento de la beca de maestría, sin la cual no hubiese podido continuar mis estudios.

AL CICESE por brindarme la oportunidad de estudiar mi posgrado en esta institución.

Al proyecto Historias de vida, pesca y conservación de los elasmobranquios que habitan la Reserva de la Biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado, No. SEMARNAT 2002 CO1-1129.

A mi comité de tesis: Dr. Oscar Sosa, Dr. Benjamin Barón y M.C. Vicente Ferreira, por todo su apoyo y valiosos cometarios en la realización de este trabajo.

A la persona que hace posible cualquier cosa en el laboratorio: Carmen Rodríguez.

A Karina de la Rosa por su invaluable ayuda en la revisión del documento.

A Santa por aceptar ser mi lectora de líneas.

A José Luis Peña, la primera persona que conocí y confió en mí en ensenada. Gracias por tu amistad.

A mi generación, compañeros de desvelos y farras: Daniela, Annelisse, Vania, Isabel, Joselito y Jorge.

A mis amigos y mi gran familia del CICESE: Juan Pablo Vite, Noemí, Manuel, Héctor, Minerva, Alfredo Castillo, Lilia Flores. Gaby, Vladimir, Lalo, Angélica, José Santos, Ricardo.

A mis vecinos, compañeros y amigos: Marco A. Bernal, Mata, Gloria, Andrea, Anelena, Salomón, José Manuel, Caro y Mario

A mis hermanos de laboratorio Miguel, Omar, Poncho, Erick, Jorge Alejandro y Luis Malpica

Y a mis amigas en la distancia que confiaron en mí y me apoyaron Aimee y Nadia.

#### CONTENIDO

RESUMEN		i
ABSTRACT		
DEDICATORIA		
AGRADECI	MIENTOS	iv
CONTENID	0	v
LISTA DE F	IGURAS	vii
LISTA DE T	ABLAS	X
I.	INTRODUCCIÓN	1
I.1.	Edad y crecimiento	1
I.1.1.	Validación y verificación	3
I.1.2.	Descripción del crecimiento	5
I.1.3.	Estimación de la edad y el crecimiento en batoideos	5
I.2.	Raya gavilán, Myliobatis californica	7
I.3.	La pesquería en la parte norte del Golfo de California	9
I.4.	Justificación	10
II.	OBJETIVOS	11
II.1.	Objetivo general	11
II.2.	Objetivos particulares	11
III.	MĂTERIÂLES Y MÉTODOS	12
III.1.	Área de estudio	12
III.2.	Trabajo de campo	13
III.3.	Trabajo de laboratorio	15
III.3.1.	Limpieza y corte de las vértebras	15
III.3.2.	Fotografías	16
III.3.3.	Medición de las vértebras	16
III.3.4.	Lectura de las bandas de crecimiento	17
III.3.4.1.	Análisis visual de las bandas de crecimiento	18
III.3.4.2.	Análisis automatizado de las bandas de crecimiento	19
III.4.	Trabajo de gabinete	23
III.4.1.	Distribución de frecuencia de tallas	23
III.4.2.	Relación ancho de disco y radio de la vértebra	23
III.4.3.	Análisis de validación	23
III.4.4.	Análisis de precisión de las lecturas	25
III.4.5.	Retrocálculo	27
III.4.6.	Modelos de crecimiento	28
IV.	RESULTADOS	30
IV.1.	Distribución de frecuencia de tallas	30
IV.2.	Relación entre el tamaño del organismo y el radio vertebral	31
IV.3.	Análisis de validación	32

### **CONTENIDO** (Continuación)

IV.4.	Estimación de la edad	34
IV.5.	Estructura por edades	36
IV.6.	Análisis de precisión de las lecturas y acuerdo entre lectores	38
IV.7.	Retrocálculo de longitudes	40
IV.8.	Modelos de crecimiento	45
V.	DISCUSIÓN	49
V.1.	Análisis de validación	50
V.2.	Estimación de la edad	52
V.3.	Precisión de las lecturas	54
V.4.	Estructura por edades	56
V.5.	Modelos de crecimiento	57
VI.	CONCLUSIONES	63
VII.	REFERENCIAS	64
VIII.	APENDICE	72

#### LISTA DE FIGURAS

## Página

Figura 1.	Ejemplar de <i>Myliobatis californica</i> y su distribución geográfica	8
Figura 2.	Área de estudio, puertos pesqueros San Felipe, Baja California y Puerto Peñasco, Sonora en el norte del Golfo de California. Zona rayada, Reserva de la Biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado	13
Figura 3.	Medida corporal utilizada para los organismos de <i>Myliobatis californica</i> : Ancho de disco (AD), cuadro blanco: sección de la columna de donde se obtuvieron las vértebras.	14
Figura 4.	Etapas para la obtención de secciones longitudinales de una vértebra de <i>Myliobatis californica</i> . a) vértebra montada sobre una placa de acrílico y colocada en la cortadora Isomet, b) sección de la vértebra donde se realiza el corte, c) Sección longitudinal teñido con violeta cristal incluido en resina.	16
Figura 5.	Sección longitudinal de una vértebra de <i>Myliobatis californica</i> , hembra de 610mm de AD con 8 bandas hialinas (puntos). F: Foco; MN: marca de nacimiento; RV: radio; BH: banda hialina; BO: banda opaca	17
Figura 6.	Sección longitudinal de una vértebra de <i>Myliobatis californica</i> , hembra de 1070 mm de AD. MN: marca de nacimiento; CC: cuerpo calcáreo; IN: intermedialia, LF: líneas finales traslapadas y Líneas dobles consideradas como una.	19
Figura 7.	a) Histogramas originales en escala de grises e b) Histogramas suavizados en escala de grises. El eje de la abscisa representa el RV en mm y el eje la ordenada el valor de gris del píxel	20
Figura 8.	Correlación cruzada entre los histogramas suavizados (alineamiento óptimo R2=0.91 entre las dos series de datos encontrada a 15 píxeles hacia la derecha)	21
Figura 9.	Valores de la pendiente suavizada e histograma suavizado. Eje de la abscisa representa el Radio de la vértebra en mm y el eje la ordenada el valor de la pendiente y el valor de gris del píxel.	22
	0 r	

vii

## LISTA DE FIGURAS (Continuación) Página

Figura 10.	En la imagen se observa la posición donde fueron tomadas las medidas usadas en el análisis de Incremento Marginal	24
Figura 11.	Número total de ejemplares de la raya gavilán <i>Myliobatis</i> <i>californica</i> recolectados en la parte norte del Golfo de California, entre los años 2003 y 2006 agrupados por	30
Figura 12.	Distribución de frecuencias de tallas (ancho de disco, mm) de hembras y machos de la raya gavilán <i>Myliobatis</i> <i>californica</i> del norte del Golfo de California (columnas rayadas: embriones).	31
Figura 13.	Relación entre el ancho de disco (mm) y el radio de la vértebra de las hembras y los machos de la raya gavilán <i>Myliobatis californica</i> del norte del Golfo de California. (asteriscos = embriones, no fueron incluidos en la regresión	
Figura 14.	lineal) Frecuencia porcentual de aparición de borde hialino u opaco en las vértebras de la raya gavilán <i>Myliobatis</i>	32
Figura 15.	<i>californica</i> Promedio mensual del Incremento Marginal (IM). Los números sobre las barras indican el tamaño de muestra por	33
Figura 16.	mes y las barras de error la desviación estándar (DST) Estructura de edades para hembras y machos de la raya gavilán <i>Myliobatis californica</i> del norte Golfo de California, a) Edad final estimada mediante el análisis ocular y b) Edad estimada mediante el conteo por el análisis de perfiles de densidad de las imágenes digitalizadas	34
Figura 17.	Relación lineal entre las lecturas realizadas en las vértebras de hembras y machos de la raya gavilán <i>Myliobatis</i> <i>californica</i> en el Alto Golfo de California. a) Lecturas por Lector 1 vs Lector 2 y b) Lectura final por análisis ocular contra lectura por análisis de perfiles de densidad en imágenes digitales.	40
Figura 18.	Curvas de crecimiento generadas por los parámetros del modelo de von Bertalanffy (VBGF) estimados a partir de los promedios de AD retrocalculados para hembras y machos de la raya gavilán <i>Myliobatis californica</i>	47

### LISTA DE FIGURAS (Continuación)

das al
obatis
y del
mbras

48

#### LISTA DE TABLAS

Tabla I.	Resultados de precisión de las tres lecturas realizadas por cada lector en las imágenes de las vértebras de <i>Myliobatis</i> <i>californica</i> . (PEP) Porcentaje de Error Promedio; (CV)	Página
Tabla II	Coeficiente de Variación; (IP) Índice de Precisión Porcentaie de acuerdo (PA) entre las lecturas realizadas	38
	por Lectores y entre las lecturas realizadas por los dos métodos de lectura y diferencias en las lecturas de las	
	vértebras por intervalos de error	39
Tabla III.	Ancho de disco promedio de (AD) retrocalculado para	
	cada clase de edad obtenida por el análisis visual de las	10
T 11 TY	vertebras de las hembras de <i>Myliobatis californica</i>	42
Tabla IV.	Ancho de disco promedio (AD) retrocalculado para cada	
	clase de edad obtenida de las lecturas realizadas por	
	hembras de Myliohatis californica	43
Tabla V	Ancho de disco promedio (AD) retrocalculado para cada	75
Tuotu V.	clase de edad obtenida por el análisis visual de las	
	vértebras de los machos de <i>Myliobatis californica</i>	44
Tabla VI.	Ancho de disco promedio de (AD) retrocalculado para	
	cada clase de edad obtenida de las lecturas realizadas por	
	análisis automatizado de imágenes de las vértebras de los	
	machos de Myliobatis californica	44
Tabla VII.	Parámetros de crecimiento de los dos modelos de	
	crecimiento ajustados a los datos de longitud-edad	
	obtenidos por el analisis visual (AV) y el Analisis eutometizado de histogramos (AA) de hombres y machos	
	de la rava gavilán Myliohatis californica	15
Tabla VIII	Estudios de edad y crecimiento de algunas especies de	43
	batoideos que habitan en el Pacífico Golfo de California	
	y Oeste de Australia	62
	<b>,</b>	

#### I. INTRODUCCIÓN

La caracterización de los parámetros de la historia de vida de una especie sujeta a explotación pesquera es de suma importancia. Estos son utilizados en modelos, como los demográficos, con los cuales se puede describir la dinámica poblacional de una especie y evaluar su potencial biológico o estimar el tamaño de sus poblaciones. Los estudios de edad y crecimiento son uno de los primeros pasos de esta caracterización; permitiéndonos conocer los parámetros de la estructura por edades de las poblaciones, edad de madurez sexual, longevidad y dependiendo del modelo, la mortalidad total y por pesca, entre otros (Campana, 2001).

El grupo de batoideos, que incluye a los peces sierra, rayas, peces-guitarra, torpedos y rayas eléctricas (McEachran y Notarbartolo di Sciara, 1995), es el más diverso dentro de los elasmobranquios y comprende 540 especies clasificadas en 22 familias y 71 géneros (Ebert, 2003). Se han realizado algunas investigaciones sobre la historia de vida de estas especies, caracterizando su edad, crecimiento, reproducción y dinámica poblacional, así como también aspectos pesqueros, demográficos, genéticos y taxonómicos (Carrier *et al.*, 2004). No obstante, aún se desconoce gran parte de la biología de la mayoría de las especies. El presente trabajo pretende ampliar el conocimiento de la biología de la raya gavilán, *Myliobatis californica* del norte del Golfo de California, México.

#### I.1. Edad y crecimiento

La edad se define como la descripción cuantitativa del tiempo de vida de un organismo y el crecimiento como el cambio de tamaño corporal entre dos instantes en el tiempo (DeVries y Frie, 1996). Las variaciones en las tasas de crecimiento se encuentran determinadas por el estado metabólico del organismo, sobre el cual inciden factores como la alimentación y la reproducción y por el efecto directo de los factores ambientales como la temperatura (Pitcher y Hart, 1982). En el caso de

los peces poiquilotermos (cuya temperatura corporal se ajusta a la del ambiente), el crecimiento tiene variaciones temporales, es decir, existe una diferencia en la velocidad de crecimiento asociada a la época del año (Nikolsky, 1963).

Se han empleado varias técnicas para estudiar el crecimiento de los peces, entre las cuales se encuentra el análisis de frecuencia de tallas. Esta técnica consiste en monitorear el cambio en el tiempo de cada clase modal de tamaño o cohorte, que se hace corresponder a la talla media de una clase de edad. Para logar lo anterior, se debe tener un gran número de datos en donde se encuentren representadas todas las tallas de la población (Cailliet y Goldman, 2004). Algunas desventajas de este análisis, es que existe un sesgo en las tallas debido a la selectividad de las artes de pesca, que influyen en la distribución de la frecuencia de tallas, excluyendo a los individuos jóvenes (tallas pequeñas) que todavía no son completamente reclutados al arte durante las operaciones pesqueras. También se puede observar una sobreposición en las distribuciones de las tallas mayores, debido a que el crecimiento ya no es tan rápido y es difícil diferenciar entre las modas (MacLennan, 1992). Esta técnica es considerada como una aproximación básica en los estudios de crecimiento y generalmente es corroborada con las curvas de crecimiento derivadas de la interpretación de marcas concéntricas (bandas de crecimiento) formadas en estructuras calcificadas, como en las espinas o las vértebras (Cailliet et al., 1986).

Las vértebras de los elasmobranquios son estructuras de cartílago calcificado, compuestas de hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , depositada en una matriz orgánica, constituida principalmente de colágeno (Urist, 1961). En la mayoría de los elasmobranquios esta mineralización ocurre por depósitos periódicos durante su crecimiento, lo que produce zonas concéntricas denominadas bandas. La consistencia y color de las bandas se debe a las diferencias de concentración de calcio y fósforo presentes en ellas; la banda obscura tiene un mayor contenido de estos elementos y la banda hialina menor concentración (Cailliet *et al.*, 1986). Estos

patrones podrían estar fuertemente influenciados por los cambios estacionales que afectan las tasas de crecimiento. Generalmente las bandas de lento crecimiento son formadas durante el verano y tienen un color opaco y las bandas de rápido crecimiento son formadas durante el invierno y tiene un color translúcido (hialinas) (Cailliet *et al.*, 1983; Cailliet y Goldman, 2004). Sin embargo, el asociar la formación de un par de bandas (opaca y hialina) con un periodo anual, podría no ser correcto, por lo que es necesaria la validación de esta periodicidad (Cailliet *et al.*, 2006).

#### I.1.1.Validación y verificación

La validación es la confirmación de que la formación de las bandas provee un registro continuo del crecimiento y que su conteo representa un intervalo de tiempo conocido. La verificación es la evaluación de la edad estimada mediante la comparación de dos métodos de estimación de edad (Cailliet y Goldman, 2004). Para el estudio de la edad y el crecimiento de los elasmobranquios se han utilizado diversas técnicas de validación. La técnica de marcaje y recaptura utiliza la oxitetraciclina (otc), un antibiótico de uso veterinario, que se inyecta al organismo para marcarlo. Al ser asimilado se deposita en los sitos de calcificación activa produciendo una marca visible y permanente en sus estructuras duras. Posteriormente, cuando los organismos son recapturados se comparan sus tallas (entre el momento del marcaje y la recaptura), se revisan las muestras de sus estructuras (p. ej. vértebras o secciones de ellas) bajo luz ultravioleta y se establece la relación correspondiente. Los problemas asociados a esta técnica se relacionan con el bajo porcentaje de individuos recapturados y con un periodo de tiempo extenso necesario para observar la formación de bandas posteriores a la marca bioquímica. También se ha utilizado la oxitetraciclina para validar el crecimiento en cautiverio, con la desventaja del lento crecimiento de los elasmobranquios y del

efecto de que las condiciones controladas no reflejan el ritmo natural de crecimiento y formación de las bandas (Goldman, 2004).

Una técnica indirecta que ha sido muy utilizada es el análisis del Incremento Marginal (IM). La popularidad de esta técnica se atribuye a que requiere un modesto número de muestras, su bajo costo y la gran diversidad de métodos para hacer más visibles y fáciles de interpretar las bandas de crecimiento en las vértebras (Campana, 2001). El análisis del IM consiste en la identificación y medición de la banda formada en el borde de la vértebra, la cual es comparada con el ancho del último par de bandas formado y se relacionan los valores de estas medidas al mes de captura. Los individuos con edad cero no se incluyen en el análisis porque no tienen un par de bandas completamente formado (Cailliet *et al.*, 2006).

Después de validar el patrón de formación de las bandas en las vértebras, se debe de medir la consistencia de la interpretación de las edades observadas en ellas. La exactitud y precisión de la estimación de la edad es un componente crítico para el estudio del crecimiento. Se debe lograr una reproducibilidad coherente de las estimaciones de la edad en las vértebras para lograr una buena precisión, aunque puede no ser exacta, es decir, sin reflejar la edad absoluta (Campana, 2001). La correspondencia y la precisión de las lecturas se ha realizado por medio del porcentaje de error promedio (PEP), el cual compara la estimación de edad entre varios lectores.

La lectura de bandas de crecimiento y su medición manual demanda una gran inversión de tiempo y la disposición de por lo menos dos lectores con cierta experiencia. Recientemente se han utilizado técnicas que combinan fotografías digitales de las estructuras y programas de análisis de imágenes para automatizar las lecturas del patrón periódico de las bandas encontradas en escamas, otolitos y espinas (Lancelotti *et al.*, 2003; Rypel, 2008; Kopf *et al.*, 2008). La utilización de esta automatización cada vez es más importante en los estudios de edad y crecimiento.

#### I.1.2. Descripción del crecimiento

El conocimiento de la talla y la edad de un organismo nos permite describir el crecimiento individual mediante modelos matemáticos. El modelo de von Bertalanffy (1938) es el que incluye mayores fundamentos fisiológicos y puede describir el crecimiento del pez tanto en longitud como en peso, puede ser incorporado a modelos de rendimiento y permite comparaciones inter e intra específica del crecimiento de diferentes stocks, su ajuste es fácil para cualquier conjunto de datos de crecimiento y también tiene una sólida base teórica y ecológica (Haddon, 2001). En el caso de los elasmobranquios, Fabens (1965) propuso una modificación en la ecuación del modelo de von Bertalanffy donde sustituye  $t_0$  (un parámetro de ajuste que determina la edad hipotética a la cual la especie tiene una longitud igual a cero) por la longitud de nacimiento real de la especie, lo cual se ajusta a las características del crecimiento embrionario de los elasmobranquios.

#### I.1.3. Estimación de la edad y el crecimiento en batoideos

Para los estudios de la edad y el crecimiento de los batoideos se han utilizado diversas técnicas, donde la más generalizada es la interpretación de la formación de bandas de crecimiento en estructuras duras. En la mayoría de los casos se ha hecho uso de las vértebras, aunque recientemente Gallagher *et al.* (2006) concluyeron que los aguijones caudolaterales de *Amblyraja radiate* son estructuras efectivas para este fin y su extracción no requiere el sacrificar al individuo.

Para validar que las vértebras proveen un registro continuo del crecimiento y así poder estimar la edad, Holden (1972) marcó y recapturó organismos de las especies rayas *Raja brachyura*, *R. clavata* y *R. Montagui* en el Mar de Irlanda y obtuvo una estimación de los parámetros de crecimiento de estas especies a pesar del reducido número de individuos recapturados. Holden y Vince (1973) utilizaron el marcaje con oxitetraciclina en la raya *Raja clavata* en el Mar del Norte y Ryland y Ajayi (1984) utilizaron la misma técnica en las rayas *R. clavata*, *R. microocellata* y *R. montagui* 

en la Bahía de Carmarthen al sur de Gales, en ambos estudios se concluyó que un par de bandas se forma anualmente, a partir de esta validación se estimaron los parámetros de crecimiento. En las especies *Dasyatis violacea* (Mollet *et al.*, 2002) y *Dasyatis chrysonota chrysonota* (Cowley, 1997) se ha monitoreado el crecimiento en cautiverio y se ha encontrado que existen diferencias entre las tasas de crecimiento observadas en los organismos que se mantienen en cautiverio con respecto a los que se encuentran en su medio natural.

Por medio de la técnica de análisis del Incremento Marginal (IM) se han obtenido tanto resultados favorables como desfavorables. Para la raya *Torpedo californica* en las costas del sur de California, no fue posible la validación de un periodo de formación anual de un par de bandas por las características de sus vértebras (pequeñas, frágiles y difíciles de leer) (Neer y Cailliet, 2001). En otros casos la variabilidad individual y el reducido número de muestras mensuales no ha permitido establecer el periodo de tiempo en que se forma el par de bandas en las especies de rayas *Raja brachyura, R. clavata, R. montagui* y *Leucoraja naevus* en el mar de Irlanda (Gallagher *et al.*, 2004).

Por otro lado para el pez guitarra *Rhinoptera bonasus*, en el norte del Golfo de México (Neer y Thompson, 2005), para la raya *Leucoraja ocellata* (Sulikowski *et al.*, 2003) y para la raya *Amblyraja radiata* (Sulikowski *et al.*, 2005) ambas en el Golfo de Maine y para *Urolophus lobatus* en la Costa oeste de Australia (White *et al.*, 2001), se ha validado por medio del análisis del Incremento Marginal (IM), la formación de un par de bandas (hialina y opaca) de crecimiento anual, e incluso por medio de esta técnica se ha validado el crecimiento embrionario para *Trygonoptera personata* y *T. mucosa* en la costa oeste de Australia (White *et al.*, 2002)

En las costas de la península de Baja California se ha generado muy poca información sobre la biología básica de los batoideos. Se han realizado estudios de edad y crecimiento de la raya diamante *Dasyatis dipterura*, en Bahía Magdalena BCS (Smith *et al.*, 2007), del pez guitarra *Rhinobatos productus* en el Golfo de

California (Márquez-Farías, 2007), de la raya *Raja inornata* (Castillo-Géniz, 2007) y la raya mariposa *Gymnura marmorata* (Rodríguez-Lorenzo, 2007) del norte del Golfo de California y para *Narcine entemedor* (Villavicencio, 2000) y para la manta diablo *Mobula japónica* (Cuevas-Zimbrón, 2007) en Baja California Sur. En todos los casos se utilizó la interpretación de las bandas de crecimiento en las vértebras para la estimación de la edad y el análisis de Incremento Marginal (IM) para validar la periodicidad de la formación de las bandas de crecimiento en estas estructuras. Los estudios precedentes indican que es posible estimar la edad y el crecimiento en

las especies de batoideos mediante la lectura de bandas de crecimiento en las vértebras, así como su validación mediante la utilización de diversas técnicas.

#### I.2. Raya gavilán, Myliobatis californica

La raya gavilán *Myliobatis californica* (Gill, 1865) es un batoideo que se ubica taxonómicamente en el orden Myliobatiforme y pertenece a la familia Miliobatididae (Compagno, 1999). Se caracteriza porque en la parte anterior de la cabeza tiene un lóbulo subrostral achatado, cola en forma de látigo con una pequeña aleta dorsal seguida de una espina, la línea media del dorso está desprovista de tubérculos o aguijones y tiene una coloración café verdoso en el dorso y el vientre blanco (Santana-Morales, 2005) (Fig. 1a).

Su reproducción es histotrófica con un periodo de gestación de entre 9 y 12 meses y una fecundidad de 2 a 5 embriones (Martin y Cailliet, 1988b). Este tipo de reproducción consiste en que en sus primeras etapas de desarrollo, los embriones consumen los nutrientes de su saco vitelino y después son alimentados por secreciones uterinas producidas por la madre (Musick y Ellis, 2005). En su etapa adulta su alimentación es bentónica y se compone principalmente de almejas, camarones, cangrejos y poliquetos (Gray *et al.*, 1997). Se distribuye en aguas costeras y estuarinas desde Oregon, EUA hasta el Golfo de California en México (Miller y Lea, 1972) (Fig. 1b).

En las costas de la península de Baja California se ha reportado su presencia en el estero Punta Banda, BC, (Beltrán-Félix *et al.*, 1986), en Bahía Almejas, localizada en el complejo lagunar de Bahía Magdalena, BCS (Villavicencio-Garayzar, 1996), en Punta Arena de la Ventana, BCS (Notarbartolo di Sciara, 1987) y en la parte norte del Golfo de California (Castro-Aguirre *et al.*, 1970).



Figura 1.- Ejemplar de *Myliobatis californica* y su distribución geográfica.

La biología de la raya gavilán *M. californica* se ha estudiado en las costas de California, EUA y en la costa oeste de la península de Baja California. Enfocándose en aspectos de alimentación en Humboldt Bay, California, EUA (Gray *et al.*, 1997); biología reproductiva en Elkhorn Slough California, EUA (Martin y Cailliet, 1988b) y Bahía Almejas, BCS (Villavicencio-Garayzar, 1996); patrones de distribución relacionados con variables ambientales en Tomales Bay, California (Matern *et al.*, 2000 y Hopkins y Cech, 2003) y también se ha descrito la estructura genética poblacional en las costas península de Baja California (Sandoval-Castillo, 2005). El

único trabajo sobre la edad y el crecimiento para esta especie fue realizado por Martin y Cailliet (1988a) en la parte central de las costas de California, EUA. Estos autores analizaron la formación de bandas de crecimiento en las vértebras (corte transversal) aumentando el contraste entre las bandas con aceite y utilizando radiografías. Concluyeron que las vértebras tienen un registro continuo del crecimiento y que el patrón de mineralización corresponde a cambios anuales en las variables físicas del hábitat

#### I.3. La pesquería en la parte norte del Golfo de California

La pesquería en el norte del Golfo de California es multiespecífica. Las actividades desarrolladas, sitios y artes de pesca utilizados cambian estacionalmente y se capturan una gran variedad de peces e invertebrados. En esta zona se ha reportado la presencia de 36 especies de condrictios, de los cuales, 18 son tiburones, 17 son rayas y un holocéfalo (quimera). La pesca artesanal tradicional y la pesca de mediana altura de arrastre; dedicadas a la captura de especies de escama y camarón en el norte del Golfo de California, han capturado durante muchos años de forma intensiva, diversas especies de tiburones, rayas y quimeras (estas últimas, de forma incidental) (Santana-Morales, 2005).

En la pesquería dirigida a los elasmobranquios, las rayas son el grupo predominante, representan 63.4% en las capturas. La explotación comercial incide principalmente sobre las especies: *Rhinobatos productus, Dasyatis dipterura, Gymnura spp, Rhinoptera steindachneri* y *Myliobatis californica*. Dado que la mayoría de las especies capturadas se encuentran en estadios juveniles y semiadultos, se ha mencionado que esta zona funciona como área de crianza (Santana-Morales, 2005; Bizzarro *et al.*, 2007, 2009).

La clasificación de los elasmobranquios como estrategas K, debido a las características como su lento crecimiento, madurez sexual tardía, bajo potencial reproductivo y por tener extensos periodos de gestación, hacen que este grupo de

especies sea vulnerable a regímenes de pesca intensos y prolongados (Holden, 1974).

Por lo cual resulta de esencial importancia conocer la edad y parámetros como la tasa de crecimiento, edad de madurez y la longevidad así como evaluar el estado de sus poblaciones y predecir como fluctuarán sus poblaciones en el tiempo, bajo presiones de captura comercial (Cailliet *et al.*, 1986).

#### I.4. Justificación

La raya gavilán *Myliobatis californica* es una especie que presenta características de lento crecimiento, bajo potencial reproductivo y extensos periodos de gestación. Por lo que es considerada una especie vulnerable al esfuerzo pesquero. La parte norte del Golfo de California se ha considerado un área de crianza para esta especie, donde las capturas comerciales se realizan principalmente durante su temporada reproductiva. Debido a que la única fuente de información sobre la edad y crecimiento de esta especie fue generada hace más de 20 años para organismos capturados en California, EUA, es importante la obtención de información actual y especifica para esta zona. Por lo tanto el presente estudio tiene como objetivo contribuir con la información básica de la edad y el crecimiento de *M. californica* en la parte norte del Golfo de California, permitiendo conocer su tasa de crecimiento individual (k) y longevidad. Esta información es indispensable para realizar la evaluación del estado de su población. Considerando importante la comparación de los parámetros de crecimiento de *M. californica* en los diferentes puntos de distribución.

#### II. OBJETIVOS

#### **II.1.** Objetivo general

Este estudio estimó la edad y describió el crecimiento de *Myliobatis californica* en la parte norte del Golfo de California mediante la lectura de bandas de crecimiento en las vértebras. Así mismo, tuvo como fin comparar las curvas de crecimiento estimadas con las descritas en las costas de California.

#### **II.2.** Objetivos particulares

- Validar la tasa de depositación estacional de las bandas de crecimiento en las vértebras.
- Estimar los parámetros de crecimiento individual.
- Describir su crecimiento.
- Evaluar la utilización del análisis computacional de imágenes como una alternativa para la lectura de bandas de crecimiento en la raya gavilán *Myliobatis californica*.
- Comparar las curvas de crecimiento de *Myliobatis californica* en el Alto Golfo de California y las costas de California.

#### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### III.1.Área de estudio

El Golfo de California se encuentra ubicado entre la árida Península de Baja California y los estados de Sonora y Sinaloa, comunicándose en su límite sureño con el Océano Pacífico. Se ha clasificado como una zona de elevada productividad debido a las surgencias y a la mezcla por mareas, que transportan agua profunda, fría y rica en nutrientes a la superficie (Álvarez-Borrego, 2003). Las surgencias prevalecen a lo largo del Golfo y las concentraciones superficiales de nutrientes más altas se registran durante los meses de invierno (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978).

El norte del Golfo de California comprende desde el Delta del Río Colorado hasta la región de las grandes islas. Los fondos someros (50-200m) tienen una ligera pendiente hacia el suroeste. El fondo marino cuenta con una gran cantidad de sedimentos de origen continental, que en su mayoría fueron acarreados por el Río Colorado. Presenta una evaporación cuantiosa y precipitación reducida. La temperatura más alta se registra en agosto (32.6° C) y la más baja en diciembre (8.3° C) (Álvarez-Borrego, 2003). Se caracteriza por una salinidad superficial elevada (35.5 ‰). Las mareas tienen una gran amplitud y son de tipo semidiurno (dos mareas altas y dos bajas en 24 horas), las cuales se encuentran entre las mayores del mundo, por ejemplo, en la boca del Río Colorado se han medido fluctuaciones de más de nueve metros, que genera fuertes corrientes de marea y olas pequeñas (Tovilla, 1991).

Parte de esta región fue declarada área natural protegida, con el carácter de Reserva de la Biósfera "Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado", por la existencia de ecosistemas representativos de gran diversidad y riqueza biológica (Diario Oficial de la Federación, 1993). También se ha señalado como zona de crianza y desove de importantes especies marinas. Como ejemplo tenemos a la vaquita marina

*Phaocoena sinus* y la totoaba *Totoaba macdonaldi* especies ubicadas en la NOM-029 como endémicas y en peligro de extinción (Diario Oficial de la Federación, 2002).

#### III.2.Trabajo de campo

Para estudiar la edad, se obtuvieron vértebras de organismos capturados por la flota artesanal de San Felipe, Baja California y la flota industrial en Puerto Peñasco, Sonora (Fig. 2), como parte del proyecto "Historias de vida, pesca y conservación de elasmobranquios que habitan la Reserva de la Biosfera "Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado". Cuyo principal objetivo fue evaluar la importancia del área de la Reserva Biológica para las historias de vida de los elasmobranquios que la habitan o la visitan a lo largo del año.



Figura 2.- Área de estudio, puertos pesqueros San Felipe, Baja California y Puerto Peñasco, Sonora en la parte norte del Golfo de California. Zona rayada, Reserva de la Biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado.

Las muestras se obtuvieron durante los periodos de enero a octubre de 2003, marzo a mayo de 2004, abril de 2005 y septiembre de 2006. La pesquería artesanal utiliza para su operación pangas de 22 a 25 pies de longitud con motor fuera de borda y son maniobradas por 1-3 pescadores. Se usan como artes de pesca, redes agalleras de fondo con luz de malla entre 3.5 y 8 pulgadas. Para completar las muestras se obtuvieron ejemplares de la pesquería de mediana altura, la cual se desarrolla fuera del área de la reserva, por la utilización de redes de arrastre (luz de malla de 3.5 pulgadas) (Santana-Morales, 2005).

De cada organismo muestreado, se midió el ancho del disco (AD), que es la medida entre los extremos más alejados de las aletas pectorales (Fig. 3) y se clasificó el sexo por medio de las características externas (presencia de gonopterigios en los machos y ausencia en las hembras).



Figura 3.- Medida corporal utilizada para los organismos de *Myliobatis californica*: Ancho de disco (AD), cuadro blanco: sección de la columna de donde se obtuvieron las vértebras.

Las vértebras se extrajeron de la región dorsal de la columna sobre la cavidad abdominal. Las muestras recolectadas fueron colocadas en bolsas de plástico, se etiquetaron y congelaron hasta su análisis en el Laboratorio de Ecología Pesquera del CICESE. Se registró la fecha de muestreo, la localidad de colecta y el arte de pesca.

#### III.3.Trabajo de laboratorio

#### III.3.1. Limpieza y corte de las vértebras

Las vértebras fueron descongeladas y la remoción del cartílago y tejido conectivo se realizó de manera manual con ayuda de un bisturí. Para retirar por completo los restos de tejido, las vértebras se sumergieron en peroxido de hidrogeno al 30% durante 15 minutos y después fueron limpiadas con papel absorbente. Una vez terminado el procedimiento se guardaron en bolsas de plástico etiquetadas para su posterior corte.

Se realizaron cortes longitudinales de dos o tres vértebras por organismo, utilizando una cortadora de baja velocidad Isomet (Buehler, con navaja de diamante de 16 cm de diámetro). Cada sección de la vértebra con un grosor de 0.5 mm, incluyó el centro de la vértebra (Fig.4 a y b).

Las secciones de las vértebras fueron teñidas para aumentar el contraste entre las bandas de crecimiento, utilizando la técnica de Violeta cristal descrita por Schawartz (1983). Ésta consistió en colocar el corte en una solución de violeta cristal al 0.01% durante 15 minutos. Después de dejarlos secar, las secciones fueron fijadas en un portaobjetos de vidrio con resina Cystoseal, para facilitar su manejo (Fig. 4c).



Figura 4.- Etapas para la obtención de secciones longitudinales de una vértebra de *Myliobatis californica*. a) vértebra montada sobre una placa de acrílico y colocada en la cortadora Isomet, b) sección de la vértebra donde se realiza el corte, c) Sección longitudinal teñido con violeta cristal incluido en resina.

#### **III.3.2.** Fotografías

Las imágenes de las secciones de las vértebras fueron obtenidas en un microscopio estereoscópico Olympus SZX7 acoplado a una cámara digital Olympus Microfire de 7.4 megapíxeles y a una computadora. Las imágenes se archivaron en blanco y negro en formato TIF, con un tamaño de 1.8 MB. De la misma forma, se capturó la imagen de una reglilla micrométrica graduada en décimas de milímetro, para calibrar el analizador de imágenes.

#### III.3.3. Medición de las vértebras

Para realizar las mediciones de las secciones de las vértebras se usó un sistema de análisis de imágenes. Todas las mediciones se llevaron a cabo con el programa ImageJ 1.40g (Rasband, 2008). Con la imagen de la reglilla micrométrica se calibró

el programa y se utilizó el milímetro como unidad de medida. De cada sección vertebral se obtuvieron las siguientes medidas: a) radio vertebral, definido como la longitud desde el foco hasta el borde, utilizada para establecer la relación entre el ancho de disco y el radio de la vértebra; b) del foco a la marca de nacimiento; y c) desde el foco hasta cada banda hialina. Estas fueron utilizadas para el Análisis de Retrocálculo y el análisis del Incremento Marginal (Fig. 5).



Figura 5.- Sección longitudinal de una vértebra de *Myliobatis californica*, hembra de 610mm de AD con 8 bandas hialinas (puntos). F: Foco; MN: marca de nacimiento; RV: radio; BH: banda hialina; BO: banda opaca.

#### III.3.4. Lectura de las bandas de crecimiento

Para evaluar la utilización de un análisis automatizado de lectura de bandas de crecimiento, la obtención del número de bandas de crecimiento en las secciones vertebrales se realizó mediante dos métodos de lectura: análisis visual y análisis automatizado.

#### III.3.4.1. Análisis visual de las bandas de crecimiento

Se definió un protocolo de lectura para el análisis visual de las bandas de crecimiento en las secciones de las vértebras. Para familiarizarse con el patrón de formación de las bandas de crecimiento, las imágenes de las secciones de las vértebras fueron examinadas de forma preliminar proyectándolas en una pantalla de computadora. Se identificaron las bandas opacas y hialinas. Las edad asignada para cada vértebra se realizó contando el número total de las bandas hialinas. La asignación de la edad fue exacta, es decir, no se consideró una edad mayor aunque estuviera formada parte de la banda siguiente. Los conteos se realizaron por triplicado por dos lectores. Cuando no existía una concordancia entre las lecturas realizadas por los dos lectores, un tercer lector definió el número final de bandas de crecimiento (Lectura final), cuando no se llegó a un acuerdo, se descartaron las lecturas de esas vértebras.

El requisito para contar una banda hialina es que se extendiera desde el brazo del cuerpo calcáreo (CC), atravesando la intermedialia (IN) hasta llegar al brazo opuesto del CC. La agrupación de bandas hialinas dobles y triples fueron consideradas una sola cuando el patrón de distancia entre ellas no concordada con las bandas hialinas anteriores y posteriores a este agrupamiento. En las vértebras de mayor tamaño se observaron bandas hialinas poco separadas y en algunas ocasiones sobrepuestas, particularmente cerca del borde (Fig. 6).

También se identificó la marca de nacimiento (MN) como una banda hialina poco definida localizada cerca del foco y en algunas vértebras como el cambio de ángulo en los bordes laterales de la vértebra cercano del foco.



Figura 6.- Sección longitudinal de una vértebra de *Myliobatis californica*, hembra de 1070 mm de AD. MN: marca de nacimiento; CC: cuerpo calcáreo; IN: intermedialia, LF: líneas finales traslapadas y Líneas dobles consideradas como una.

#### III.3.4.2. Análisis automatizado de las bandas de crecimiento

Para realizar la lectura automatizada de las bandas de crecimiento en las imágenes de las secciones vertebrales, se crearon histogramas en escala de grises utilizando la herramienta Plot Profile del programa de análisis de imágenes ImageJ (Rasband, 2008). Se trazaron transectos de un píxel de ancho sobre las imágenes, desde el foco hasta el borde de cada vértebra (RV), obteniendo el valor de gris de cada píxel a lo largo de la línea trazada. La información obtenida fue un archivo de datos numéricos, donde los valores de gris van de 0 (negro) a 255 (blanco). Los transectos presentaron entre 700 y 1400 píxeles, dependiendo del tamaño de la vértebra. La equivalencia de píxeles por mm comprendió un intervalo de 17 a 37 píxeles/mm.

El protocolo de lectura para este caso consistió en encontrar una correspondencia entre los histogramas en escala de grises de los dos brazos de la sección vertebral. Con esto, se obtuvo una señal válida de la presencia del mismo número de bandas de crecimiento en ambos brazos de la vértebra. Esto permitió el utilizar un histograma único para cada sección vertebral.

#### **III.3.4.2.1.** Similitud entre los histogramas

Debido a la variabilidad de los histogramas originales por efecto principalmente de lo angosto de la línea de transecto, a los histogramas se les aplicó un suavizado por medio del método de promedios móviles. Para estas series de valores de gris se utilizaron periodos de 21 puntos y se realizó calculando el promedio de los diez valores anteriores y los diez valores posteriores para cada punto en la serie. Se empleó este periodo después de que se observó que minimizaba la variabilidad sin alterar el patrón observado (Fig. 7).



Figura 7.- a) Histogramas originales en escala de grises e b) Histogramas suavizados en escala de grises. El eje de la abscisa representa el RV en mm y el eje la ordenada el valor de gris del píxel.

El grado de correlación estadística entre los histogramas suavizados correspondientes a los dos brazos de la sección de la vértebra se comprobó por medio de una correlación cruzada (Davis, 1986) utilizando el programa estadístico PAST v. 1.91 (Hammer et al., 2001). Este análisis encuentra el alineamiento óptimo entre las dos series de datos. El eje de las abscisas muestra el desplazamiento del histograma del brazo izquierdo con respecto al histograma del brazo derecho y el eje de las ordenadas la correlación que existe entre los dos histogramas para un desplazamiento dado (Fig. 8). Para el ejemplo que se ilustra en la figura 8 se observa que el alineamiento óptimo (R<sup>2</sup>=0.91) entre los dos histogramas se ajustó a 15 píxeles hacia la derecha.



Figura 8.- Correlación cruzada entre los histogramas suavizados (alineamiento óptimo  $R^2$ =0.91 entre las dos series de datos encontrada a 15 píxeles hacia la derecha).

#### III.3.4.2.2. Identificación y posición de las bandas de crecimiento

Para contabilizar y obtener la posición de las bandas hialinas (máximos valores de grises) en los histogramas suavizados, se calculó la pendiente para cada par de puntos  $(x_1,y_1; x_2,y_2)$ . En el histograma la curva ascendente (banda hialina) presenta

valores con un signo positivo y la curva descendente (banda opaca) valores con un signo negativo. La aplicación de esta sencilla formula proporciona el punto en la serie donde se da el cambio de signo de la pendiente.

Al observar la variabilidad en la serie de datos de la pendiente, se sometieron a un suavizado calculando promedios móviles con periodos de 7 puntos (Fig. 9).



Figura 9.- Valores de la pendiente suavizada e histograma suavizado. Eje de la abscisa representa el Radio de la vértebra en mm y el eje la ordenada el valor de la pendiente y el valor de gris del píxel.

En el ejemplo ilustrado en la figura 9, se observa el histograma sobrepuesto a la serie de valores de la pendiente. Las bandas hialinas están representadas en el histograma como los máximos valores en la escala de intensidad del píxel (250).

Cuando estos valores cambian de signo, se observa en la serie de valores de la pendiente una caída drástica que atraviesa el eje de las abscisas, con lo que obtenemos el final de la banda hialina y el inicio de la banda opaca La posición donde la serie de la pendiente corta el eje de las abscisas es la distancia en milímetros del foco al final de cada banda hialina. De esta forma se identificó de forma sencilla el número de bandas hialinas y su posición.

#### III.4.Trabajo de gabinete

#### III.4.1. Distribución de frecuencia de tallas

A partir de los datos de Ancho de Disco (AD) de los organismos analizados se construyeron histogramas de frecuencia de tallas con intervalos de 50 mm con la finalidad de observar la distribución de tallas.

#### III.4.2. Relación ancho de disco y radio de la vértebra

Se realizó un análisis de regresión lineal simple con el fin de establecer la proporcionalidad entre la talla de la vértebra y el ancho de disco del individuo. Los coeficientes de la regresión lineal se estimaron a través del método de mínimos cuadrados y la relación entre las variables se evalúo con la tasa de determinación  $(R^2)$  (Zar, 1999).

#### III.4.3. Análisis de validación

El análisis del Incremento Marginal (IM), es un método robusto e indirecto que se aplica para validar o establecer la periodicidad (mensual o anual) de la formación de un par de bandas de crecimiento (hialina y opaca). Cuando el IM toma valores cercanos o iguales a uno indican que el par de bandas está totalmente formado, mientras que valores cercanos a cero indican que la banda está en formación (Cailliet y Goldman, 2004; Goldman, 2004 y Lessa *et al.*, 2006).

donde: RV = Radio vertebral; Rn = distancia del foco a la última banda completa; Rn-1 = distancia del foco a la penúltima banda formada.

El análisis se realizó clasificando el borde en opaco o hialino y se midió el incremento dividiendo el grosor del borde por el grosor del penúltimo par de bandas (Cailliet *et al.*, 2006) (Fig. 10). Comparando los valores obtenidos con el mes de captura se determina aproximadamente cual es la periodicidad de la formación del par de bandas. Para comprobar si existen diferencias significativas en el incremento marginal entre los meses, se utilizó la prueba de análisis de varianza no paramétrica de Kruskal-Wallis



Figura 10.- En la imagen se observa la posición donde fueron tomadas las medidas usadas en el análisis de Incremento Marginal.
#### III.4.4. Análisis de precisión de las lecturas

Para evaluar la precisión en las tres lecturas realizadas por cada lector se utilizó el Porcentaje de Error Promedio (PEP). Este índice tiene los siguientes supuestos: la variabilidad en las lecturas de cada organismo abarca todos los grupos de edad y se expresa en términos relativos, todas las fuentes de variabilidad son iguales así como todos los diseños experimentales. Es decir, que no hay diferencias en el número de veces que la muestra fue leída (Cailliet *et al.*, 2006).

La ecuación de la prueba del Porcentaje de Error Promedio (PEP) (Beamish y Fournier, 1981):

PEP = 100% × 
$$\frac{1}{R} \sum_{i=j}^{R} \frac{(xij - xj)}{xj}$$
....(3)

donde: R= número de veces que se determinó la edad a cada muestra, xij= i-ésima determinación de edad del j-ésimo organismo y xj= edad promedio calculada para el i-ésimo organismo.

El conjunto de estimaciones de edad para una especie en particular con el índice más bajo es el más preciso, o el lector con el índice más bajo para un conjunto de estimaciones de edad para una o más especies podría ser evaluado como más preciso a diferencia de otro lector o grupo de lectores con un índice mayor (Beamish y Fournier, 1981).

Mediante el cálculo del Coeficiente de Variación (CV) se evaluó la reproductibilidad en las tres lecturas realizadas por cada lector. Este coeficiente considera a la desviación estándar como una fracción de la media expresada como porcentaje y se obtiene del reemplazo del promedio de la desviación absoluta en la media aritmética de la edad; el Índice de Precisión (IP) es el resultado del coeficiente de variación entre la raíz cuadrada de las lecturas (Chang, 1982).

$$CV = 100\% \times \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{R} \frac{(x_{ij} - x_j)^2}{R - 1}}}{x_j} \dots IP = \frac{CV}{\sqrt{R}} \dots (4) \text{ y (5)}$$

Para la estimación de la precisión y la reproductibilidad de las estimaciones de edad realizadas por los dos lectores y los dos métodos de lecturas se utilizó una técnica sencilla denominada Porcentaje de Acuerdo (PA) (Goldman 2004).

$$PA = \frac{No. de acuerdos}{No. de lecturas} *100 \dots (6)$$

El PA se calculó entre la tercera lectura realizada por cada lector para cada vértebra. Se utilizó esta lectura debido a la experiencia que adquirió cada Lector al haber realizado las dos lecturas anteriores. Para la comparación entre los dos métodos de lectura se utilizaron la Lectura final (Análisis visual) y la lectura automatizada realizada en los histogramas de cada vértebra.

También se obtuvieron las diferencias en el número de bandas contabilizadas por los lectores (tercera lectura realizada por cada lector) y entre el número de bandas contabilizadas por los dos métodos de lectura. Estas diferencias se calcularon para intervalos de error en las lecturas de más o menos 1 año de diferencia ( $\pm$  1 año), 2 ( $\pm$  2 años), 3 ( $\pm$  3 años) y hasta 4 ( $\pm$  4 años).

Con la finalidad de detectar sesgos o inconsistencias en las interpretaciones de las bandas (Campana *et al.*, 1995), se efectuó un análisis de regresión lineal simple entre la tercera lectura realizada por cada lector y entre las lecturas realizadas por los dos métodos de lectura

Para comprobar si existen diferencias significativas entre las lecturas realizadas se aplicaron la prueba pareada de "t de Student" y la prueba no paramétrica de pares iguales (empates de lecturas) de Wilcoxon.

# III.4.5. Retrocálculo

El análisis retrospectivo o retrocálculo es una técnica que permite extraer el registro de la historia del crecimiento del individuo que se encuentra en las vértebras. Se utilizan las dimensiones de las bandas de crecimiento y la longitud del cuerpo al momento de la captura, para estimar la longitud al tiempo de formación de cada una de estas bandas. La técnica se basa en dos supuestos: periodicidad constante de los incrementos y proporcionalidad entre la talla de la vértebra y el ancho de disco del individuo (Francis, 1990).

Las longitudes retrocalculadas se basan en una modificación lineal del método de Dahl-Lea (Francis, 1990) que se aplica cuando la relación entre el ancho de disco y el radio de la vértebra se ajusta a una función lineal, en la cual la relación RV-AD no pasa por el origen.

$$AD = a + b RV$$
 .....(7)

donde: AD= ancho de disco; RV= longitud de la vértebra del foco al borde y a y b son constantes.

El ancho de disco a edades previas (ADi) es calculado por la ecuación:

ADi = ADc \* 
$$\left[\frac{(a + b RVi)}{(a + b RV)}\right]$$
....(8)

donde: ADi= Ancho de disco calculado a la edad i; ADc= Ancho de disco cuando el organismo fue capturado; RV= distancia del foco al borde; RVi= distancia del foco al anillo i; a y b= parámetros estimados de la regresión lineal para RV y AD e incorporadas a la formula de retrocálculo.

#### **III.4.6.** Modelos de crecimiento

Se utilizó la rutina de Modelos no lineales del paquete STATISTICA 7.1 (StatSoft, Inc. 2005), para estimar los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy (VBGF) que esta descrito con la ecuación (von Bertalanffy, 1938):

donde:  $AD_{\infty}$  es el ancho de disco teórico máximo; k es la tasa de crecimiento; t es el tiempo en años; y t<sub>0</sub> es un parámetro de condición inicial, que no tiene un significado biológico directo, se considera como la edad hipotética a la cual la especie tiene una longitud igual a cero. Este parámetro generalmente es negativo para realizar el ajuste de la curva de crecimiento .

También se estimaron los parámetros de crecimiento para la ecuación alternativa de este modelo propuesta por Fabens (1965), la cual utiliza una estimación de la talla de nacimiento ( $L_0$ ) en lugar de  $t_0$ , una variante adecuada, tomando en cuenta las características del crecimiento embrionario de los tiburones:

donde:  $AD_0$  es la longitud de nacimiento.

Para la comparación de las curvas de crecimiento generadas por los parámetros de crecimiento estimados se utilizó la prueba  $T^2$  de Hotelling (STATISTICA 7.1). Una prueba en la que se comparan las curvas generadas por los tres parámetros  $AD_{\infty}$ , t<sub>0</sub>, k, siendo la hipótesis nula (Ho) que las dos curvas de crecimiento son iguales y se considera que el crecimiento de los dos grupos es similar.

Para calcular la longevidad se utilizaron los estimadores (Cailliet y Goldman, 2004):

 $7\left(\ln\frac{2}{k}\right)$  que representan el 99 % de AD<sub> $\infty$ </sub>.

# **IV. RESULTADOS**

Se obtuvo una muestra total de 103 organismos de *Myliobatis californica*, capturados durante el periodo 2003 al 2006, de los cuales 48 fueron hembras y 55 machos. Debido al reducido número de muestras por mes, los datos para los cuatro años fueron agrupados para conformar un año "tipo". La mayor frecuencia de ocurrencia fue en junio, durante este mes se obtuvieron organismos que representaron casi todo el intervalo de tallas desde los 380 mm hasta los 1175 mm de AD. En el mes de abril se registró en la muestra la captura de una hembra de 1200 mm de AD con embriones (Fig. 11). En los meses de febrero, junio y de octubre a diciembre, el tamaño de muestras fue mínimo o nulo.



Figura 11.- Número total de ejemplares de la raya gavilán *Myliobatis californica* recolectados en la parte norte del Golfo de California, entre los años 2003 y 2006 agrupados por meses.

# IV.1. Distribución de frecuencia de tallas

La estructura por tallas de las hembras tuvo una distribución heterogénea, aunque con una variabilidad menor a la observada en la distribución de tallas de los machos, que presentan un pico de frecuencia en el intervalo de 575-625 mm de AD. La

hembra de mayor tamaño presentó un ancho de disco de 1200 mm y el macho de mayor tamaño un AD de 760 mm. Los anchos de disco promedio para hembras y machos fueron de 778.51mm y 583.3 mm, respectivamente. También se obtuvieron de una hembra que se encontraba en periodo de gestación, tres embriones: una hembra y dos machos que midieron 215 mm, 210 y 217 mm de AD (Fig. 12).



Figura 12.- Distribución de frecuencias de tallas (ancho de disco, mm) de hembras y machos de la raya gavilán *Myliobatis californica* del norte del Golfo de California (columnas rayadas: embriones).

#### IV.2. Relación entre el tamaño del organismo y el radio vertebral

Se encontró que la relación entre las variables ancho de disco y radio de la vértebra fue lineal tanto para las hembras (m=173.09,  $R^2$ =0.95) como para los machos (m=177.18,  $R^2$ =0.91), lo que sugiere que las vértebras son confiables para su utilización en la determinación de la edad. Asimismo, no se encontraron diferencias entre las pendientes de las relaciones lineales por sexo (ANCOVA, *P*=0.967), por lo que se calculó una regresión conjunta representada por la ecuación, AD=181.77 RV +88.07, con un coeficiente de determinación  $R^2$ = 0.942 (Fig. 13).



Figura 13.- Relación entre el ancho de disco (mm) y el radio de la vértebra de las hembras y los machos de la raya gavilán *Myliobatis californica* del norte del Golfo de California. (asteriscos = embriones, no fueron incluidos en la regresión lineal).

#### IV.3. Análisis de validación

Para validar la formación de un par de bandas al año mediante la caracterización del borde vertebral y el análisis del Incremento Marginal se utilizaron únicamente organismos que se encontraban en el intervalo de edad estimada de 1 a 5 años (n=33). La aplicación del análisis del IM a organismos con este intervalo de edades, se debió a que en las vértebras de individuos que presentaban un mayor número de bandas hialinas no se obtenía una certeza total al caracterizar el tipo de borde. También se encontró con la dificultad de realizar las mediciones en el borde de las vértebras donde las bandas hialinas se encontraban muy pegadas o traslapadas. No se consideraron los organismos con edad cero debido a que no contaban con el par de bandas completamente formado.

En la figura 16 se presenta la frecuencia en porcentaje de los dos tipos de borde. El mayor porcentaje de vértebras con el borde opaco estuvieron presentes entre julio y

septiembre y las vértebras con el borde hialino en los meses de febrero, marzo y octubre (Fig. 14). Durante los meses de febrero y octubre solo se obtuvo un organismo por mes.



Figura 14.- Frecuencia porcentual de aparición de borde hialino u opaco en las vértebras de la raya gavilán *Myliobatis californica*.

Al realizar el análisis del Incremento Marginal los valores menores indican el inicio de formación de una banda mientras que los valores mayores indican que el par de bandas se encuentra casi totalmente formado. En los resultados de este análisis para las secciones de las vértebras de *M. California* (Fig. 15) se observa que los menores valores del IM se obtuvieron en las vértebras de los organismos capturados durante los meses de julio, agosto y septiembre, mismos meses en que se presentaron el mayor número de vértebras con el borde opaco.

Los mayores valores del IM fueron calculados para los meses de Febrero, Marzo y octubre, meses en los cuales se caracterizo el mayor número de vértebras con el borde hialino. Estos resultados permiten inferir la formación de un par de bandas al

año. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas (P> 0.05) entre los promedios de los valores mensuales del incremento marginal, al realizar el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis.



Figura 15.- Promedio mensual del Incremento Marginal (IM). Los números sobre las barras indican el tamaño de muestra por mes y las barras de error la desviación estándar (DST).

#### IV.4. Estimación de la edad

Una vez que se ha validado el periodo de formación del par de bandas se procedió a observar el patrón continuó de las bandas de crecimiento (opacas y hialinas) en las imágenes de las secciones longitudinales de las vértebras de *M. californica*.

Para descartar la formación de bandas de crecimiento durante el periodo embrionario de *M. californica*, se analizaron las vértebras de los embriones obtenidos. Debido a que no se observó la presencia de bandas de crecimiento en estas, se puede inferir que la marca de nacimiento se forma después de nacer.

En la muestra se obtuvieron solo dos individuos a los cuales se les asigno la edad cero (edad exacta), sin embargo en las vértebras de estos organismos ya se encontraba en formación parte de la siguiente banda, pero sin llegar a completar el par de bandas. No se asignaron edades intermedias debido a la subjetividad de establecer una fecha de nacimiento para todos los individuos de la muestra.

La tinción con la técnica de violeta cristal descrita por Schawartz (1983), aumentó el contraste entre las bandas de crecimiento (hialina y opaca) lo que permitió la identificación visual de las bandas en las fotografías digitales y la obtención de los histogramas en valores de gris utilizados en el análisis automatizado de lectura.

Al realizar el análisis visual de las bandas de crecimiento en las secciones vertebrales, se tuvieron dificultades para estimar la edad en las vértebras pertenecientes a los organismos mas grandes, ya que las bandas hialinas cercanas al borde eran muy delgadas y traslapadas (Apéndice 1).

Las pruebas estadísticas utilizadas para evaluar la aplicabilidad del análisis automatizado de lectura, comienzan por encontrar la correspondencia entre el patrón de crecimiento en ambos brazos de la vértebra. Se encontró que en el 76 % de las vértebras, la correlación cruzada entre los dos histogramas de cada sección vertebral (intervalo de longitud de entre 700 y 1400 píxeles) obtuvo un coeficiente de determinación  $R^2$ > 0.6. Lo cual indica que se observa la misma señal para el brazo izquierdo y derecho de la vértebra. Esta característica confiere la posibilidad de utilizar cualquiera de los brazos de la vértebra para las estimaciones de la edad.

En las vértebras donde la correlación cruzada realizada a los pares de histogramas tuvieron un coeficiente de determinación  $R^2 < 0.6$  (24%), se clasificaron las posibles causas que pudieron afectar los histogramas en valores de gris y se dividieron en dos grupos: 1) Errores en el análisis de imágenes y 2) Tratamiento de las vértebras.

# 1. Errores en el análisis de imágenes

Se verificó la utilización del ancho óptimo del transecto empleado para obtener el histograma en valores de grises de ambos brazos de la vértebra, debido a que en el primer análisis sólo se utilizó un ancho de transecto de 1 píxel. Para esto se

realizaron transectos con anchos de 10, 20, 30 y 40 píxeles en las imágenes de las 24 vértebras con bajos coeficientes de determinación. así como en 10 imágenes de vértebras escogidas al azar que presentaron una  $R^2 > 0.6$ .

Al realizar la correlación cruzada entre los histogramas de ambos brazos de las vértebras se encontró que el coeficiente de determinación aumentó en 0.2 puntos con un ancho de transecto de 30 píxeles.

# 2. Tratamiento de las vértebras

Para los histogramas de las secciones de las vértebras (11%) en los cuales el coeficiente de determinación no aumentó con el ancho de transecto óptimo (30 píxeles), se observó una tinción deficiente y/o un mal corte longitudinal. Estos errores se reflejaron en la imagen de la vértebra, la cual no tuvo el contraste necesario para aplicar el análisis automatizado de lectura (Apéndice 1).

# **IV.5.Estructura por edades**

Los individuos de *M. californica* capturados en la zona de estudio presentaron un amplio intervalo de edades. En la distribución de frecuencia por edades se observa que la muestra se encuentra dominada por organismos que presentaron menos de 12 años de edad. Se observa una distribución bimodal, con un incremento en la frecuencia para el intervalo de edades 2-3 y 9-11. (Fig. 16a y 16b).

Así mismo, al comparar las distribuciones por edades obtenidas por los dos métodos de lectura, se observaron diferencias en la edades estimadas por cada método. La edad máxima estimada por el análisis visual (Lectura final) fue de 26 años para las hembras y la estimada por el análisis automatizado fue de 22 años. Ambos métodos estimaron una edad máxima de 12 años para los machos.



Figura 16.- Estructura de edades para hembras y machos de la raya gavilán *Myliobatis californica* del norte Golfo de California, a) Edad final estimada mediante el análisis ocular y b) Edad estimada mediante el análisis automatizado.

#### IV.6. Análisis de precisión de las lecturas y acuerdo entre lectores

Se aplicaron varios análisis para verificar la consistencia de la interpretación de las edades estimadas por los dos lectores y por los dos métodos de lectura.

En la Tabla I se pueden observar los resultados obtenidos de los análisis de precisión aplicados a las tres lecturas realizadas por cada lector en las imágenes de las vértebras. Los porcentajes mas pequeños indican una mayor precisión entre las lecturas realizadas. Para este caso se observa que el Lector 2 presentó los menores porcentajes para el PEP, CV e IP, con respecto a las lecturas realizadas por el Lector 1.

Tabla I.-Resultados de precisión de las tres lecturas realizadas por cada lector en lasimágenes de las vértebras de Myliobatis californica. (PEP) Porcentaje de Error Promedio; (CV)Coeficiente de Variación; (IP) Índice de Precisión.

Lector	No. de muestras	No. de observaciones	PEP	CV	IP
1	100	3	9.40	13.7	7.93
2	100	3	6.83	9.2	5.31

Para comparar la estimación de la edad entre lectores se obtuvo el Porcentaje de Acuerdo (PA) entre la tercera lectura realizada por cada lector. Se encontró que el 52% de lecturas fueron iguales. Para comparar la estimación de la edad realizada por los dos métodos se utilizó la lectura final por análisis ocular y la estimación de la edad por el análisis automatizado de lectura. Se encontró que el PA fue mayor entre los dos métodos que entre lectores (PA=73%). Esto como consecuencia de la asignación de la edad final a cada vértebra realizada por el tercer lector, lo que minimizó la variabilidad (Tabla II).

En la Tabla II se enlistan el porcentaje de las lecturas por intervalo de diferencia entre las lecturas entre lectores o entre técnicas. El mayor número de lecturas diferentes se encontró cuando la diferencia entre las lecturas fue de  $\pm 1$  año de edad estimada, tanto entre las lecturas realizadas por los lectores como entre las lecturas realizadas por los dos métodos. Se encontraron diferencias en las lecturas de hasta ±4 años para las dos comparaciones.

 Tabla II. Porcentaje de acuerdo (PA) entre las lecturas realizadas por Lectores y entre las lecturas realizadas por los dos métodos de lectura y diferencias en las lecturas de las vértebras por intervalos de error.

	Lector 1 vs Lector 2 (%)	Lectura final por Análisis visual vs Análisis digital (%)
PA	52	72
Diferencias de ±1 año	26	17
Diferencias de ±2 años	10	5
Diferencias de ±3 años	6	2
Diferencias de ±4 años	6	4

El análisis de regresión lineal simple se realizó con la finalidad de detectar las edades donde se localizaron las máximas diferencias en la estimación de la edad Entre las terceras lecturas realizadas por los dos lectores se observan las mayores discrepancias en el intervalo de edades de 8 a 12 años. Para estas dos variables se obtuvo un coeficiente de determinación alto de  $R^2$ =0.91, no obstante la prueba pareada de "t de Student" y la prueba no paramétrica de Wilcoxon, indicaron una diferencia significativa entre estas dos variables (P<0.001).

Para la comparación realizada entre las edades estimadas por los dos métodos de lectura, las mayores diferencias se localizaron a las edades de entre 18 a 26 años. Donde el número final de las bandas localizado en el borde de la vértebra no es detectado por el análisis automatizado. Se obtuvo un coeficiente de determinación alto  $R^2$ =0.94 (Fig. 17b) y al realizar las pruebas estadísticas antes mencionadas, no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) entre las lecturas.



Figura 17.- Relación lineal entre las lecturas realizadas en las vértebras de hembras y machos de la raya gavilán *Myliobatis californica* del norte del Golfo de California. a) Lecturas por Lector 1 vs Lector 2 y b) Lectura final por análisis visual contra lectura por análisis automatizado.

# IV.7. Retrocálculo de longitudes

Mediante la técnica del retrocálculo se estimó el ancho de disco al tiempo de formación de cada una de las bandas hialinas en las vértebras de *M. californica*. De

esta forma se incrementaron considerablemente el número de medidas de la longitud correspondientes a individuos jóvenes, que estaban pobremente representadas en los muestreos. También permitió aumentar el número de datos de talla-edad utilizados para estimar los parámetros de los modelos de crecimiento de von Bertalanffy y Fabens (1965).

Esta técnica fue aplicada utilizando las edades estimadas por los dos métodos de lectura. El número de tallas promedio estimadas para cada edad fue de 206 y 216 datos para las hembras por el análisis visual y el análisis automatizado de lectura, respectivamente. Y de 91 datos para los machos por ambos métodos. La diferencia en el número de datos para las hembras entre los dos métodos de lectura se debió a que el análisis automatizado determinó la presencia de dos edades más en comparación con el análisis visual.

Las talla promedio de nacimiento retrocalculada fue de 278 mm para las hembras y de 265.2 mm para los machos, utilizando la edad estimada por análisis visual (Tablas III y V), y de 281.3mm y 271.7mm de AD para las hembras y para los machos utilizando la edad estimada por el análisis automatizado de lectura (Tablas IV y VI). Estas tallas fueron menores en comparación con las tallas registradas para los dos únicos organismos a los cuales se les asigno la edad cero (una hembra de 430 mm y un macho de 380 mm de AD).

El análisis de automatizado de lectura no logró identificar la marca de nacimiento cuando en la vértebra la banda hialina fue muy débil o difusa o cuando fue un cambio en el ángulo del borde lateral de la vértebra, por lo que no se obtuvieron las tallas de nacimiento para 6 organismos hembras con edades estimadas en 7, 10, 16, 17 y 20 años (Tabla IV).

													Aı	ncho de dis	sco retroca	ilculado (n	1 <b>m</b> )											
EDAD	n	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	26	26
0	1	345.1																										
1	4	313.2	418.1																									
2	5	295.8	419.5	503.4																								
3	4	273.4	369.5	440.2	494.0																							
4	2	292.9	363.0	454.3	517.4	586.0																						
5	2	306.2	373.8	424.7	486.7	546.4	628.9																					
6	1	280.5	433.6	514.0	574.2	624.4	669.1	726.8																				
7	2	290.7	352.5	412.8	467.4	509.5	569.7	615.1	665.4																			
8	4	249.0	309.6	359.4	411.9	478.4	528.9	567.6	618.4	666.4																		
9	4	257.2	335.5	411.2	471.3	531.4	586.3	648.9	696.5	761.6	824.5																	
11	6	269.8	330.6	403.7	446.9	499.7	548.8	592.6	650.1	706.0	752.2	807.7	862.9															
12	4	268.5	338.5	414.2	495.9	544.5	593.5	650.8	710.8	778.0	858.2	906.8	947.1	982.8														
13	1	252.5	328.5	412.4	462.6	488.5	532.6	588.3	622.3	657.3	691.3	748.0	805.6	910.3	934.0													
14	3	292.8	343.8	404.3	458.4	506.9	540.3	573.5	621.3	664.0	714.2	760.8	809.4	847.6	883.3	919.8												
19	1	256.2	310.3	382.8	427.2	464.8	500.1	548.9	588.2	642.7	728.5	786.9	860.9	896.8	920.4	950.7	973.9	996.3	1015.1	1043.1	1052.9							
23	1	287.6	343.0	394.6	425.5	440.9	469.2	489.5	522.3	550.1	596.4	642.4	686.6	744.1	796.8	859.8	903.0	937.0	963.2	978.8	1006.4	1044.2	1063.4	1083.0	1100.8			
25	1	244.6	320.3	394.9	466.8	511.2	614.0	617.2	648.8	674.3	699.0	725.0	767.3	802.1	855.8	888.6	927.7	959.2	980.7	1010.3	1034.4	1056.7	1078.6	1091.8	1106.8	1126.4	1139.9	
26	1	228.2	287.1	350.8	382.8	444.1	483.5	536.0	580.6	607.0	641.8	676.2	707.0	724.7	757.6	818.5	878.8	904.8	935.3	956.6	981.4	1018.0	1052.1	1073.6	1090.1	1108.7	1124.0	1147.1
Promedio	47	278.0	351.6	417.3	465.9	512.6	558.8	596.3	629.5	670.7	722.9	756.7	805.8	844.1	858.0	887.5	920.8	949.3	973.6	997.2	1018.8	1039.6	1064.7	1082.8	1099.2	1117.5	1132.0	1147.1
DST		28.4	41.0	44.1	46.2	51.5	58.7	62.0	53.9	67.2	82.0	81.7	86.0	93.5	69.5	51.4	40.6	38.5	33.4	37.7	31.4	19.8	13.3	9.1	8.4	12.5	11.3	

Tabla III.- Ancho de disco promedio de (AD) retrocalculado para cada clase de edad obtenida por el análisis visual de las vértebras de las hembras de *Myliobatis californica*.

		Ancho de disco retrocalculado (mm)																						
EDAD	n	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
0	1	340.07																						
1	3	313.0	443.2																					
2	6	283.2	375.3	489.2																				
3	4	279.2	373.8	451.3	506.5																			
4	2	317.0	378.5	479.9	532.7	607.2																		
5	2	310.3	367.9	435.4	507.4	556.0	648.6																	
6	1	284.2	427.4	525.4	590.2	643.1	662.7	741.2																
7	2		347.5	409.8	467.7	511.9	580.9	621.9	678.8															
8	3	256.1	292.5	349.5	395.7	453.2	488.8	546.6	598.2	656.9														
9	5	253.8	324.3	397.3	467.0	526.2	571.6	636.9	688.9	750.7	818.3													
10	1		299.7	394.6	489.5	584.4	641.3	698.3	736.2	622.4	869.1	907.0												
11	5	281.0	332.9	396.6	433.5	487.5	538.4	589.2	641.6	695.4	747.4	801.7	860.6											
12	3	234.1	308.9	378.6	432.9	475.4	545.9	610.3	663.3	744.7	824.3	862.2	925.1	963.8										
13	3	264.7	334.5	412.4	473.1	524.6	573.9	613.9	660.1	708.6	770.2	815.1	861.2	903.6	927.2									
15	1	302.5	368.3	450.7	522.7	582.4	648.3	712.1	736.8	780.1	815.0	868.6	924.1	981.8	1041.5	1084.7	1113.5							
16	1		291.4	318.8	357.9	416.6	451.8	485.1	545.7	631.8	739.4	798.1	884.1	915.4	954.6	980.0	1017.2	1040.7						
17	1		279.5	323.0	377.5	413.8	486.4	522.7	595.4	649.8	740.6	795.1	849.5	904.0	958.5	1009.3	1049.2	1085.5	1121.8	1140.0				
18	1	250.0	284.2	343.6	383.2	428.2	483.9	500.1	548.7	572.1	609.9	662.1	680.1	734.1	752.1	804.2	824.0	878.0	914.0	932.0	950.0			
20	1		284.3	362.3	446.0	498.0	553.8	591.0	609.6	656.0	702.5	739.7	776.8	795.4	832.6	867.9	905.1	940.4	981.3	1018.5	1063.1	1092.8		
22	1	250.1	295.8	348.8	387.1	449.2	494.9	538.8	584.4	619.1	650.2	714.1	739.7	794.5	849.3	913.2	946.1	973.5	1015.5	1081.3	1123.3	1141.5	1159.8	1178.1
Promedio	47	281.3	337.4	403.7	457.1	509.9	558.1	600.6	637.5	674.0	753.3	796.4	833.5	874.1	902.2	943.2	975.9	983.6	1008.2	1042.9	1045.5	1117.2	1159.8	1178.1
DST		30.3	48.9	59.1	64.1	70.2	68.9	78.6	63.5	62.4	78.1	74.7	84.0	88.8	96.7	101.6	104.9	81.8	86.7	89.1	88.0	34.5		

Tabla IV.- Ancho de disco promedio (AD) retrocalculado para cada clase de edad obtenida de las lecturas realizadas por análisis automatizado de imágenes de las vértebras de las hembras de *Myliobatis californica*.

							Ancho de o	lisco retrocalc	ulado (mm)					
EDAD	n	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	1	308.9												
1	1	262.1	352.2											
2	4	262.2	343.9	411.8										
3	5	246.8	322.3	392.5	453.6									
4	2	250.5	312.6	377.2	418.2	471.3								
5	4	262.3	343.0	418.6	468.3	509.2	548.7							
6	5	267.5	329.1	379.9	433.4	481.6	508.8	542.1						
7	4	253.3	312.4	377.9	420.2	470.6	503.7	538.6	571.0					
8	6	258.0	314.3	376.6	431.5	472.6	509.3	539.2	568.9	592.9				
9	7	263.9	330.7	383.9	429.4	467.3	506.4	536.8	561.7	585.6	606.2			
10	5	282.6	348.7	386.0	423.4	461.7	492.5	534.9	558.0	580.1	603.7	621.0		
11	7	269.6	328.8	383.2	419.3	448.7	480.2	504.0	528.8	556.6	573.7	591.7	612.3	
12	2	260.3	314.2	392.9	429.8	465.9	498.4	516.3	540.0	560.4	574.3	587.6	597.1	609.4
Promedio	53	265.2	329.4	389.1	432.7	472.1	506.0	530.3	554.7	575.1	589.5	600.1	604.7	609.4
DST		15.9	14.7	14.1	16.2	16.5	19.8	14.4	16.8	15.9	17.9	18.2	10.7	

Tabla V.-Ancho de disco promedio (AD) retrocalculado para cada clase de edad obtenida porel análisis visual de las vértebras de los machos de Myliobatis californica.

Tabla VI.- Ancho de disco promedio de (AD) retrocalculado para cada clase de edad obtenida de las lecturas realizadas por análisis automatizado de imágenes de las vértebras de los machos de *Myliobatis californica*.

							Ancho de o	lisco retrocalci	ulado (mm)					
EDAD	n	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	1	301.5188												
1	1	263.3	354.2											
2	3	265.3	358.0	445.2										
3	6	264.5	323.4	392.2	446.7									
4	2	254.4	315.6	390.3	426.2	487.5								
5	3	266.9	338.8	417.8	468.2	512.2	554.3							
6	6	265.0	313.0	369.4	433.8	477.2	508.9	544.1						
7	3	288.6	318.0	387.1	433.8	469.8	502.6	525.8	558.0					
8	7	257.7	309.0	367.3	372.0	464.1	504.9	518.9	564.2	599.0				
9	9	270.6	324.9	379.7	423.6	454.8	491.0	520.0	549.5	579.8	605.9			
10	7	277.2	315.0	366.3	407.3	443.0	481.7	512.8	542.8	573.6	597.4	614.9		
11	4	280.8	333.7	387.4	421.5	449.5	479.1	508.5	541.2	571.8	596.0	615.2	646.4	
12	1	276.4	304.6	325.3	368.6	408.1	445.7	479.6	494.7	511.6	539.8	556.7	571.8	586.8
Promedio	53	271.7	325.7	384.4	420.2	462.9	496.0	515.7	541.7	567.2	584.8	595.6	609.1	586.8
DST		13.0	17.2	30.5	30.9	29.4	31.0	19.6	24.7	32.9	30.3	33.7	52.8	

#### **IV.8.** Modelos de crecimiento

Considerando los resultados del análisis del IM, que indican una periodicidad anual de la formación de un par de bandas de crecimiento, los datos de edad (en años) y ancho de disco (mm) se ajustaron al modelo crecimiento de von Bertalanffy (FCVB) y Fabens (1965) y se obtuvieron los parámetros de crecimiento enlistados en la Tabla VII. No se observó ninguna diferencia entre los parámetros de crecimiento obtenidos al ajustar los datos a los dos modelos.

Tabla VII.- Parámetros de crecimiento de los dos modelos de crecimiento ajustados a los datos de longitud-edad obtenidos por el análisis visual (AV) y el análisis automatizado de histogramas (AA) de hembras y machos de la raya gavilán *Myliobatis californica*.

			Parán	netros			Varianza explicada	
Datos	Modelo	$AD_{\infty}$ (mm)	k	t <sub>0</sub>	$AD_{0}(mm)$	n	R	%
Observados	Hembras							
AV	von Bertalanffy	1364.98	0.064	-5.8		47	0.93	86.83
AV	Fabens	1365	0.064		426.42	47	0.93	86.83
AA	von Bertalanffy	1663.73	0.043	-6.84		47	0.93	86.83
AA	Fabens	1663.75	0.043		432.44	47	0.93	86.83
	Machos							
AV	von Bertalanffy	667.26	0.219	-3.59		53	0.82	68.5
AV	Fabens	667.26	0.219		363.89	53	0.82	68.5
AA	von Bertalanffy	716.47	0.14	-5.4		53	0.84	70.75
AA	Fabens	716.47	0.14		381.72	53	0.84	70.75
Retrocalculados	Hembras							
AV	von Bertalanffy	1449.64	0.052	-4.27		206	0.97	95.62
AV	Fabens	1449.64	0.052		289.86	206	0.97	95.62
AA	von Bertalanffy	1712.14	0.043	-4.12		216	0.97	95.62
AA	Fabens	1712.22	0.043		279.67	216	0.97	95.62
	Machos							
AV	von Bertalanffy	661.37	0.186	-2.73		91	0.99	98.16
AV	Fabens	661.37	0.186		264.03	91	0.99	98.16
AA	von Bertalanffy	676.5	0.15	-3.19		91	0.97	94.71
AA	Fabens	676.5	0.15		269.81	91	0.97	94.71

En general, se observan diferencias en las longitudes máximas y tasas de crecimiento estimadas utilizando los datos de edad obtenidos por el análisis visual y por el análisis automatizado de lectura. En todo los casos, se presentaron mayores

 $L_{\infty}$  y menores tasas de crecimiento k por el ajuste a las edades estimadas por el método automatizado de lectura. Sin embargo al comparar las curvas generadas por estos parámetros mediante la prueba T<sup>2</sup> de Hotelling, no se encontraron diferencias significativas entre los dos métodos de lectura (P>0.05).

En los parámetros obtenidos por el ajuste a los datos observados y retrocalculados, se observan diferencias en el ancho de disco de nacimiento  $(AD_0)$  estimado por el ajuste de los datos al modelo de Fabens (1965). Sin embargo, tampoco se encontraron diferencias significativas (P>0.05) entre los parámetros de las las curvas generadas, para un mismo sexo.

La selección de los parámetros estimados utilizando los datos retrocalculados se basa en el mejor ajuste que se crea al considerar una talla de nacimiento más real así como al mayor número de datos (Fig. 18).

En todos los modelos, las hembras presentaron los mayores valores en los parámetros de L<sub> $\infty$ </sub> y las menores tasas de crecimiento k. Las diferencias significativas (P< 0.005) encontradas al comparar las curvas de crecimiento entre machos y hembras justifican la obtención de parámetros de crecimiento para cada sexo. Por lo tanto se tiene que los parámetros obtenidos utilizando los datos retrocalculados ajustados al modelo de von Bertalanffy (VBGF) para las hembras son:  $AD_{\infty} = 1449.64$  mm, k= 0.052 y t<sub>0</sub>= -4.27 y para los machos son:  $AD_{\infty} = 661.37$  mm, k= 0.186 y t<sub>0</sub>= -2.73.



Figura 18.- Curvas de crecimiento generadas por los parámetros del modelo de von Bertalanffy (VBGF) estimados a partir de los promedios de AD retrocalculados para hembras y machos de la raya gavilán *Myliobatis californica*.

Al comparar los parámetros de crecimiento el presente estudio estimó para las hembras un  $AD_{\infty}$  menor y una tasa de crecimiento mayor en comparación con los parámetros reportados por Martin y Cailliet (1988a). Para los machos se observa que el presente estudio estimó un  $AD_{\infty}$  menor y una tasa de crecimiento mayor en comparación con los parámetros reportados por Martin y Cailliet (1988a). Se encontraron diferencias significativas entre las curvas de crecimiento (T<sup>2</sup> de Hotelling, P<0.005) generadas por los parámetros de crecimiento obtenidos por los dos estudios (Fig. 19).



Figura 19.- Comparación entre las curvas de crecimiento ajustadas al modelo de von Bertalanffy de la raya gavilán *Myliobatis californica* en California (Martin y Cailliet, 1988) y del norte del Golfo de California (presente trabajo). a) hembras y b) machos

# V. DISCUSIÓN

Uno de los supuestos más importantes en la utilización de estructuras duras para la estimación de la edad (e.g. vértebras en los elasmobranquios), es que exista una relación directamente proporcional entre el tamaño de la vértebra y el tamaño del organismo, es decir, el incremento en el radio de la vértebra debe ser proporcional al incremento en la talla del individuo. Ridewood (1921) y Clement (1992) realizaron estudios sobre los procesos de mineralización en las vértebras de elasmobranquios y mencionan que las vértebras crecen depositando nuevas capas de material mineralizado sobre las ya preexistentes, por lo que estas capas son permanentes y el tamaño de la vértebra aumenta conforme pasa el tiempo.

Esta relación directamente proporcional puede ser demostrada a través de correlaciones empíricas. En varias especies se han encontrado correlaciones significativas entre el tamaño de la vértebra y el tamaño del organismo. En el estudio de edad y crecimiento de la raya mariposa *Gymnura marmorata* (Rodríguez-Lorenzo, 2007) en el Alto Golfo de California, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0.88. Para la raya diamante *Dasyatis dipterura* en la costa oeste de Baja California Sur, Smith *et al.* (2007) obtuvieron una  $R^2$ = 0.92. Y Martin y Cailliet (1988a) obtuvieron una  $R^2$ =0.95 para *Myliobatis californica* en las costas de California, lo cual es consistente con lo encontrado en el presente trabajo ( $R^2$ =0.94). Por lo que se puede inferir que las vértebras de *M. californica* capturadas en la zona de estudio tienen un patrón de crecimiento adecuado para la estimación de la edad mediante la técnica de la lectura de bandas de crecimiento.

La utilización de imágenes digitales para la lectura de bandas de crecimiento en estructuras duras, así como la aplicación de programas de análisis de imágenes para realizar las mediciones, es actualmente una de las herramientas más útiles en los estudios de edad y crecimiento. Esta técnica ha permitido intercambiar fácilmente las muestras entre laboratorios para la verificación de la edad entre lectores

experimentados y minimizar el tiempo de utilización del microscopio (Campana *et al.*, 1995; Natanson *et al*, 2006).

Rypel (2008) evalúo la precisión entre los conteos de bandas de crecimiento realizados por lectores con el microscopio y lecturas realizadas sobre imágenes digitales de otolitos de 5 especies de peces y calculó un coeficiente de determinación alto ente las lecturas ( $R^2$ = 0.98). Lo que ha alentado la utilización de imágenes para el conteo de bandas de crecimiento en las vértebras de elasmobranquios en trabajos recientes (Campana *et al.*, 1995; Sulikowski *et al.*, 2005; Natanson *et al.*, 2006).

La tinción de las vértebras con violeta cristal (Schawartz, 1983) fue definida por Cailliet y Goldman (2004) como una de las técnicas más empleadas en elasmobranquios por su bajo costo y facilidad de manejo. En este trabajo su uso fue fundamental ya que mejoró el nivel de contraste entre las bandas hialinas y opacas en las fotografías digitales de las vértebras de *M. californica*.

#### V.1. Análisis de validación

El método del análisis del borde y el análisis del Incremento Marginal para confirmar la depositación de un par de bandas al año mediante la caracterización del borde de la vértebra, no fueron concluyentes debido a la falta de muestras para el periodo de octubre a enero, pero si sugieren que la banda opaca se forma durante los meses de verano y la banda hialina durante los meses de invierno.

La poca representatividad de organismos juveniles en los muestreos, la obtención de muestras de varios años y la falta de muestras mensuales han sido un obstáculo para validar este patrón en especies como la raya *Raja inornata* (Castillo-Géniz, 2007), el pez guitarra *Rhinobatos productus* (Márquez-Farías, 2007) y la raya mariposa *Gymnura marmorata* Rodríguez- Lorenzo (2007). Sin embargo, ha permitido inferir que la banda hialina se forma durante los meses de invierno.

El patrón de formación anual de un par de bandas (opaca y hialina) ha sido observado por Martin y Cailliet (1988a) para *M. californica* en Elkhorn Slough,

California, donde el mayor número de vértebras con bandas opacas en el borde se obtuvieron de individuos capturados durante los meses de mayo a octubre y el mayor número de vértebras con bandas hialinas en el borde se obtuvieron de individuos muestreados durante los meses de noviembre a mayo. Cailliet y Goldman (2004) mencionan que éste es el patrón de formación de bandas que generalmente se observa en los elasmobranquios en el hemisferio norte

Las diferencias estructurales y químicas de las bandas de crecimiento en las vértebras, se ven reflejadas en las diferencias en coloración, fácilmente visibles, producto de la depositación diferencial del material estructural (calcio y fósforo) en las bandas. Estas diferencias se han relacionado con el efecto de las fluctuaciones en los factores bióticos y abióticos sobre el crecimiento y la supervivencia. La temperatura, la periodicidad en la alimentación y la reproducción, pueden influir sobre el crecimiento somático y el ancho de las bandas depositadas en las vértebras. En un ambiente que varía estacionalmente, generalmente, la formación de una banda opaca con altas concentraciones de minerales se ha relacionado con un crecimiento rápido durante el verano y la formación de una banda hialina, poco mineralizada, se ha relacionado con un crecimiento lento durante el invierno (Cailliet *et al.*, 1986; Natanson y Cailliet, 1990; Clement, 1992).

Como consecuencia de la notable variabilidad que se ha observado al incluir en el análisis del IM mensual individuos de diferentes edades y de diferentes estadios de desarrollo (preadultos y adultos), Campana (2001) señaló que este análisis debe de estar idealmente restringido, de manera ideal, a individuos de la misma clase o grupo de edad (cohorte). También se ha documentado en otros estudio la dificultad que entraña la identificación del borde y la medición de las bandas cercanas al borde de las vértebras de los individuos más viejos (Castillo-Géniz, 2007; Rodríguez-Lorenzo, 2007; Villavicencio, 2000). Lo que ha llevado a la aplicación de esta técnica utilizando sólo a organismos juveniles. De esta forma se ha validado la formación de un par de bandas anuales para *Amblyraja radiata* (Sulikowsky *et al.*,

2005) y para *Leucoraja ocellata* (Sulikowsky *et al.*, 2003) en el Golfo de Maine, ya que los máximos incrementos marginales se observaron durante los meses de febrero a mayo (banda hialina) y disminuyeron abruptamente en julio y agosto, cuando se inicia la formación de la banda opaca. Para *Urolophus lobatus* (White *et al.*, 2001) y para *Trygonoptera personata* y *T. mucosa* (White *et al.*, 2002) en Australia, se refinó la técnica al aplicar el análisis del IM para cada cohorte de edad y se validó la formación de un par de bandas anuales en las tres especies.

En el presente estudio se observa que los valores de AIM son mayores a 1 para algunos meses, aunque la literatura reporta que los valores de AIM deben caer dentro del intervalo de 0 a 1. Lessa *et al.* (2006) mencionan que la variabilidad en las medidas del análisis del IM pueden ser consecuencia de diversos factores, entre los cuales que se encuentran la variabilidad en el crecimiento individual, un periodo de nacimiento de varios meses y en la utilización de muestras de varios años durante los cuales la variación en las condiciones interanuales posiblemente influyeron de forma distinta en la depositación de minerales en las bandas de crecimiento.

# V.2. Estimación de la edad

En el presente trabajo se realizó una comparación entre las estimaciones de la edad en secciones longitudinales utilizando dos métodos de lectura. La aplicación del método de lectura automatizado tuvo como finalidad el minimizar la subjetividad en la observación del patrón de formación de bandas en las vértebras.

En la estimación de la edad para las hembras *M. californica* por los dos métodos se observaron diferencias en 4 años. Es posible que el análisis automatizado de imágenes subestimara la edad máxima para las hembras, siendo difícil con este método el reconocimiento de las bandas cercanas al borde de las vértebras en los individuos de mayor edad. Por el contrario las estimaciones de la edad en las vértebras de los machos fueron iguales con los dos métodos. Lo que puede estar asociado al menor número de bandas presentes en estas vértebras.

A pesar de la problemática asociada con el reconocimiento de las bandas de crecimiento en el borde de las vértebras, el análisis de histogramas de imágenes resultó ser una herramienta útil que permite automatizar la lectura y medición de las bandas en las vértebras de *M. californica*. Esta técnica también ha sido eficiente para analizar los patrones de fijación de calcio en las escamas de peces (Lancelotti *et al.*, 2003).

Para la aplicación de esta técnica a la lectura de bandas de crecimiento, se deben tener algunas consideraciones. Con respecto al uso del programa de imágenes, el histograma en valores de gris más adecuado se debe de obtener con un ancho de transecto óptimo, en este caso de 30 píxeles, el cual permitió reducir la variabilidad en las series y aumentó el nivel de correlación entre los histogramas de ambos brazos de la vértebra. La utilización de los histogramas para estimar la edad permitió definir con mayor certeza el límite entre las bandas opacas y hialinas.

También se deben considerar los errores derivados de los procedimientos de corte, tinción y montaje de las vértebras, ya que son determinantes para obtener fotografías que tengan una calidad alta y nitidez. En este sentido es necesario lograr un corte y una tinción homogénea y evitar que la resina cubra la superfície de la vértebra.

Para las vértebras de los organismos de mayor tamaño, este método subestima la edad máxima, ya que no detecta cambios en el color del píxel cuando las bandas hialinas están muy delgadas y juntas. En esta situación es posible aplicar esta técnica utilizando fotografías con una mayor resolución óptica que maximice el tamaño del borde de la vértebra, para así diferenciar las bandas opacas de las hialinas.

En *M. californica* se observó que la marca de nacimiento puede estar representada ya sea por una banda hialina que en muchas ocasiones es débil y difusa o por un cambio de ángulo del borde lateral de la vértebra. Este cambio de ángulo no se puede registrar por medio del perfil de valores de gris, por lo que se debe asegurar que la interpretación del análisis de imágenes sea la correcta, considerando que la

ausencia de esta marca en el perfil no implica la ausencia de la marca de nacimiento, ya que podría subestimar la edad.

Teniendo como base las edades estimadas por el análisis visual, se compararon las edades máximas estimadas por el presente trabajo con las estimadas por Martin y Cailliet (1988a) en las costas de California. Estos autores estimaron una edad máxima de 23 años para las hembras y de 6 años para los machos. En el caso de las hembras las diferencias fueron de 3 años con respecto a los estimados en el presente estudio. Sin embargo para los machos la edad máxima estimada por este estudio fue del doble (12 años) para tallas similares (800 mm y 760 mm, respectivamente). Las diferencias en la estimación de la edad podría ser consecuencia de varios factores entre los cuales se ha considerado la técnica de preparación de las vértebras para su lectura. Cailliet y Goldman (2004) encontraron que los estudios mas recientes de edad y crecimiento utilizan secciones longitudinales en lugar de las vértebras completas, como en el estudio de Martin y Cailliet (1988a). Esta modificación en la técnica se ha realizado con base en la observación de una mejor tinción e identificación de las bandas de crecimiento en las secciones vertebrales en comparación con las vértebras completas., aunque no se puede descartar que factores asociados a la selectividad del arte de pesca, el número de muestra, la poca representatividad de individuos juveniles y/o muy viejos, así como diferencias en las tasas de crecimiento podrían influir en estos resultados.

#### V.3. Precisión de las lecturas

La lectura de las bandas de crecimiento es una técnica subjetiva, en la cual intervienen factores como: la experiencia de los lectores, la interpretación del patrón de crecimiento y la técnica de tinción para aumentar el contraste entre bandas (Campana *et al.*, 1995; Cailliet *el al.*, 2006). La variabilidad en las lecturas derivada de estos factores hace indispensable evaluar la consistencia de la interpretación de la edad. Los análisis de precisión indican el grado de congruencia entre las lecturas

realizadas por los lectores. Campana (2001) encontró que los Coeficientes de Variación (CV) de las lecturas realizadas por diferentes Lectores en estudios de edad y crecimiento en elasmobranquios fueron mayores al 10%. En este trabajo los valores fueron de 13.7% y 9.2% (Lector 1 y Lector 2, respectivamente) valores que se encuentran dentro del porcentaje aceptable.

A pesar de que estos índices son los más empleados, Cailliet y Goldman (2004) mencionan que el PEP bien puede servir para indicar que lector fue el que tuvo menos variabilidad en sus lecturas, pero no para discernir si dichas lecturas fueron correctas. Por lo que se propuso para estimar la precisión de las lecturas, el Porcentaje de Acuerdo (PA), que mide la congruencia en las lecturas y también el nivel de inconsistencia en la edad observada (Goldman, 2004).

Las diferencias encontradas entre lectores y entre métodos de lectura, calculadas mediante el porcentaje de acuerdo (PA), demuestran la subjetividad en la estimación de la edad. Sin embargo, se encontró un PA mayor entre las dos técnicas de lectura que entre lectores (73% y 53%, respectivamente). Las mayores diferencias en el número de edades estimadas por ambos métodos de lectura se localizaron en los intervalos de error  $\pm 1$  y  $\pm 2$  años. Las discrepancias en estas edades probablemente fueron consecuencia de problemas en la identificación de la marca de nacimiento (MN) para el caso de las que se diferenciaron en  $\pm 1$  edad, así como del conteo de las bandas dobles o triples presentes en las vértebras. Para el análisis de imágenes ya se ha mencionado que si la marca de nacimiento no es una banda hialina, este no lo detecta y tampoco es sensible a las bandas hialinas traslapadas en el borde de la vértebra. Las dificultades en la identificación y medición de las bandas que se encuentran en el borde de las vértebras de los individuos con mayores edades ya ha sido reportada por Cailliet y Goldman (2004), quienes sugieren que estimar la edad en estos organismos puede ser problemático debido a que las bandas de crecimiento se estrechan notablemente.

Al contrastar los dos métodos de lectura se observa que las mayores discrepancias se localizaron en las vértebras de los organismos de mayor edad (22 a 26 años), donde el análisis de imágenes resulta insensible para discernir las bandas de crecimiento, por lo que la estimación de la edad en estos organismo puede ser imprecisa.

# V.4. Estructura por edades

Se encontró un intervalo de edades entre 0 y 26 años en el caso de las hembras y entre 0 a 12 años en los machos. El 85% de los organismos tuvieron una edad superior a la edad de primera madurez (5 años para las hembras y de 2-3 años) reportada por Martin y Cailliet (1988b).

El mayor número de individuos que se encontraban en el intervalo de edades de primera madurez, así como las hembras de mayores tallas y edades (algunas de ellas preñadas) fueron capturadas durante los meses de verano. Su presencia puede ser explicada por el comportamiento reproductivo de la especie. Santana-Morales (2005) ha mencionado que las hembras sexualmente maduras entran a las zonas costeras a reproducirse. Este comportamiento también se ha reportado para esta especie en Bahía Almejas, BCS (Villavicencio-Garayzar, (1996), Humboldt Bay, California (Gray *et al.* 1997) y Elkhorn Slough, California (Martin y Cailliet, 1988b). Autores que han clasificando estas zonas como áreas importantes de crianza.

Para otras especies como *Narcine entemedor* en Bahía almejas, BCS (Villavicencio-Garayzar, 1993) y *Urolophus lobatus* en la costa oeste de Australia (White *et al.*, 2001), se ha observado que los organismos se desplazan de las áreas de alimentación hacia las de crianza. Una vez que nacen las crías, los adultos migran hacia zonas más profundas disminuyendo su presencia en las capturas.

La baja frecuencia de ocurrencia de juveniles se puede asociar con el hecho de que no habitan en las áreas de pesca o que todavía no sean reclutados al arte de pesca. El individuo más pequeño registrado en la muestra tuvo un AD de 380 mm, al cual se le estimó una edad de cero años, cabe mencionar que la vértebra de este individuo ya presentaba parte de la banda opaca contigua a la marca de nacimiento, por lo que no corresponde a la talla de nacimiento. Las tallas mínimas registradas en otros estudios son relativamente menores: 300 mm de AD para la costa oeste de Baja California Sur (Villavicencio-Garayzar, 1996) y 265 mm de AD para las costas de California (Martin y Cailliet, 1988a).

# V.5. Modelos de crecimiento

La descripción del crecimiento de una especie se realiza utilizando modelos a los cuales se ajustan los datos de tallas y edad obtenidos para calcular los parámetros de crecimiento. El modelo de crecimiento más utilizado ha sido el de von Bertalanffy, sin embargo, debido al carente significado biológico del parámetro  $t_0$ , se ha sugerido el emplear un estimado de la longitud de nacimiento (AD<sub>0</sub>) (Fabens, 1965). Modificación que ha proporcionado parámetros más realistas para algunas especies (Cailliet y Goldman, 2004).

En el presente estudio no se encontró ninguna diferencia entre los parámetros obtenidos por ambos modelos. Por lo tanto, con fines de comparación se decidieron utilizar los parámetros de crecimiento de la ecuación de von Bertalanffy.

Así mismo, como consecuencia de la subestimación de la edad máxima estimada por el análisis automatizado de lectura, se seleccionaron los parámetros obtenidos con base en las edades estimadas por el análisis visual. Aunque cabe recalcar que no se encontraron diferencias significativas entre las curvas generadas por ambos métodos.

En el presente trabajo, el uso de la técnica del retrocálculo tuvo como objetivo el complementar las edades y tallas faltantes en la muestra original, para ajustar una curva de crecimiento con una mayor información (Francis, 1990). El uso del retrocálculo es común cuando la obtención de una muestra está restringida a

organismos provenientes de una pesquería, la cual incide sólo sobre la fracción explotable de la población, sin capturar las tallas más pequeñas.

Sin embrago existen varios problemas y consideraciones asociados a la técnica del retrocálculo. En el presente estudio los AD promedio por edad estimados a través de la técnica del retrocálculo fueron menores a los AD de los individuos muestreados. Busacker *et al.*, (1990) ha mencionado que las posibles causas de este fenómeno están relacionadas con problemas asociados con la falta de una representación adecuada de los diferentes intervalos de clases de la población, que influyen en los datos obtenidos de la regresión lineal con los cuales se ajusta a la formula de retrocálculo, así como la variabilidad individual en las tallas de los organismos de la muestra. Martin y Cailliet (1988a) para *M. californica* también estimaron por medio del retrocálculo tallas menores en comparación con las tallas observadas y atribuyeron estas diferencias al pequeño número de muestra y en particular a la utilización de individuos en los cuales la asignación de la edad no fue exacta, ya que presentaban en la vértebra parte del par de bandas siguientes, es decir su talla no reflejaba la edad asignada, por lo cual mencionan que en este análisis solo deben incluir individuos de la misma cohorte.

A pesar del sesgo como consecuencia del número de muestras, esta técnica permitió estimar la talla de nacimiento más coherente con la talla observada en los embriones, la cual no pudo ser registrada en los individuos capturados, evitando así la sobreestimación de la talla de nacimiento.

En los elasmobranquios, los valores que toman los parámetros de crecimiento tienen una gran variación, que esta asociada a los grupos taxonómicos. En la recopilación realizada por Campana y Goldman (2004) se observa que en general, las especies de batoideos con tallas máximas de hasta 80 cm tienen una tasa de crecimiento (k) que varia de 0.2 a 0.5, las edades máximas son de 3 a 8 años y la edad de primera madurez va de 1 a 2 años. Por el contrario, las especies que alcanzan tallas de hasta 250 cm, tienen tasas de crecimiento menores (0.04 a 0.1) y edades máximas de hasta 26 años de edad. En las especies del género *Dipturus* se han registrado individuos de hasta 50 años de edad. La edad de primera madurez para estas especies va de 4 hasta 13 años. Los parámetros de crecimiento estimados de la raya gavilán *Myliobatis californica* del norte del Golfo de California derivados de este trabajo concuerdan con los registrados en las costas de California (Marin y Cailliet, 1988a) y se caracterizan por las bajas tasas de crecimiento y altas longevidades (Tabla VIII).

El dimorfismo sexual observado en *M. californica*, se ve reflejado en la tasa de crecimiento y la longitud máxima de machos y hembras. En diversas especies de elasmobranquios las hembras alcanzan un mayor tamaño y tienen un crecimiento mas lento (Campana y Goldman, 2004). La reproducción vivípara de estas especies puede influir en la tasa de crecimiento, ya que las hembras tienen una cavidad celómica mayor, para poder contener a los embriones (Martin y Cailliet, 1988b; Conrath, 2004; Musick y Ellis, 2005 y Castillo-Géniz, 2007). Este patrón también fue documentado por Martin y Cailliet (1988a) para *M. californica* en las costas de California, y se ha podido observar en otras especies del orden de los Myliobatiformes como *Dasyatis violacea* (Mollet *et al.*, 2002), *Gymnura marmorata* (Rodríguez-Lorenzo, 2007) y *Dasyatis dipterura* (Smith *et al.*, 2007) (Tabla VIII).

Los parámetros de crecimiento estimados para *M. californica* en el presente estudio indican que en la parte norte del Golfo de California las hembras alcanzan una longitud máxima menor y tienen una tasa de crecimiento mayor que las reportadas por Martin y Cailliet (1988a) en las costas de California. Estas diferencias pueden ser consecuencia de varios factores que pueden influir en el de crecimiento de la especie y en la formación de las bandas de crecimiento y por lo tanto en la estimación de los parámetros de la ecuación de von Bertalanffy.

Como ya se ha mencionado con anterioridad, la estimación de la edad es un proceso subjetivo, para el cual la lectura de las bandas se realiza utilizando diferentes criterios y técnicas de tinción. En el caso de la edad máxima estimada para los machos de *M. californica* por Martin y Cailliet (1988a), podría suponerse que la

utilización de las vértebras completas para la lectura propició una subestimación de la edad. Sobre todo, tomando en cuenta las dificultades que se tuvieron en este estudio en el caso de organismos añosos (con edades mayores a 5 o 6 años en los machos y 12 en las hembras).

Los modelos de crecimiento producen curvas simples que presumiblemente representan adecuadamente el crecimiento típico de la especie. Sin embargo el tamaño de muestra, la poca representatividad de individuos jóvenes y muy viejos, así como los protocolos y algoritmos utilizados para el ajuste del modelo a los datos (Tanaka *et al.* 1990), afectan la estimación de los parámetros de crecimiento.

En las vértebras, los patrones de depositación de calcio se ven influenciados por factores intrínsecos como la salud, nutrición, talla, estado de madurez y factores extrínsecos como la temperatura y la pesca, lo que conlleva a una gran variabilidad individual en el crecimiento (Cailliet *et al*, 1990). Usualmente las temperaturas altas incrementan la tasa de crecimiento y a su vez se reducen la talla máxima (Beverton y Holt, 1959).

La pesca también es una fuente de cambio en la estructura de la población. En el Golfo de California las rayas están sujetas a mortalidad por pesca tanto incidental como de la pesca artesanal, siendo capturadas en su hábitat crítico, áreas de crianza en donde los recién nacidos y las hembras grávidas son vulnerables (Villavicencio-Garayzar, 1996; Santana-Morales, 2005; Bizarro *et al.*, 2009).

Stevens *et al.* (2000) encontraron que en una población sujeta a explotación pesquera, la selectividad del arte de pesca, es decir su incidencia sobre una parte de la población, puede generar cambios en el crecimiento y sobrevivencia de los individuos jóvenes. La pesca de los individuos más grandes, disminuye la talla y la edad media de la población. Indirectamente, esta alteración de la estructura demográfica, ocasionada por la pesca, puede desencadenar cambios en el crecimiento y en la reproducción. Estos cambios conducen a una nueva estructura poblacional, generalmente formada por peces con una vida media menor, más
pequeños y con menor capacidad para producir descendencia (Hutchings, 2002). Lo que es consistente con lo encontrado al comparar los parámetros de crecimiento de *M. californica* en la parte norte del Golfo de California y en las costas de California (Martin y Cailliet, 1988a).

En las especies de batoideos que presentan dimorfismo sexual y alcanzan grandes tallas se ha observado que la disminución en la talla por efecto de la pesca también reduce su fecundidad y por ende afecta el reclutamiento poblacional. En varias especies de elasmobranquios existe una relación positiva entre la fecundidad y la talla de la hembra (Conrath, 2004). Sin embargo en el presente estudio no se pudo conocer la talla de primera madurez.

Las diferencias oceanográficas en las dos zonas de estudio y la presión por pesca a la que ha estado sometida la especie podría estar influyendo para encontrar estas diferencias.

Tabla VIII	Estudios de edad y crecimiento de algunas especies de batoideos que habitan en el Pacífico, Golfo de California y Oeste de
Australia.	

Especie	Localización	Sexo	AD máxima (mm)	K (año <sup>-1</sup> )	to	Edad máxima (años)	AD de madurez (mm)	Estudio
Myliobatis californica	California, EUA	Н	1587	0.099	-2.059	23	881	Martin y Cailliet (1988a y b)
Myliobatis californica	Norte del Golfo	Н	1449.64	0.052	-4.27	25	NR	Presente estudio
	de California	Μ	661.37	0.186	-2.73	16	NR	
Raja inornata	Alto Golfo de California		580.1	0.6	-0.86	9*	509	Castillo-Géniz (2007)
			573.9	0.59	-0.96	7*	443	
Rhinobatos productus	Golfo de California	Н	904(LT)	0.18	-1.41	10*	570(LT)	Márquez-Farías (2007)
Gymnura marmorata	Alto Golfo de California	Н	1299.04	0.11	-2.26	20	NR	Rodríguez-Lorenzo (2007)
		М	771.31	0.113	-4.47	20	NR	
Mobula japanica	Baja California sur	H y M	2338.07	0.27	-1.676		NR	Cuevas-Zimbrón (2007)
Narcine entemedor	Baja California sur	Н	826	0.302	-1.14	15*	625	Villavicencio-Garayzar, (2000)
		М	762	0.104	-5.32	11*	450	
Dasyatis dipterura	Baja California	Н	924	0.055		28	570	Smith <i>et al.</i> (2007)
		М	622	0.103		19	470	
Torpedo californica	California, EUA.	Н	1372	0.073	-1.934	16	731	Neer y Cailliet (2001)
		М	921	-137	-1.48	16	645	
Urolophus lobatus	Oeste de Australia	Н	248	0.369	-1.35	15	200	White <i>et al.</i> (2001)
		М	210	0.514	-1.18	13	160	
Trygonoptera personata	Oeste de Australia	Н	303	0.143		15*	190	White <i>et al.</i> (2002)
		М	269	0.203		9*	190	
Trigonoptera mucosa	Oeste de Australia	Н	308	0.241		17*	220	White et al. (2002)
		М	261	0.493		17*	190	

\* Edad máxima no reportada, estimación referida de las figuras presentadas en el estudio. LT: Longitud total

## VI. CONCLUSIONES

- Las vértebras torácicas de la raya gavilán *Myliobatis californica* resultaron ser estructuras confiables para estimar la edad, ya que reflejaron el crecimiento en talla de los individuos.
- Por medio de la caracterización del borde de la vértebra y la técnica del Análisis del Incremento Marginal se pudo sugerir que la formación del par de bandas (opaca y hialina) es anual. Sin embargo estos resultados se consideran preliminares debido a la falta de muestras en los meses de invierno.
- La estimación de la edad máxima realizada por el análisis visual presentó diferencias de 4 años con respecto a las estimadas por el análisis automatizado de imágenes. Teniendo dificultades principalmente en las bandas cercanas al borde de las vértebras de los individuos de mayor talla.
- La utilización de un método automatizado para la lectura de bandas de crecimiento en las vértebras resultó ser útil para la identificación y medición de las bandas de crecimiento. Un punto clave para aumentar el nivel de precisión, es la obtención de una tinción uniforme en las secciones longitudinales.
- La técnica de Retrocálculo permitió estimar la talla de nacimiento de los individuos presentes en la muestra, así como aumentar el número de datos para obtener un mejor ajuste al modelo de crecimiento.
- Los parámetros de crecimiento estimados de *Myliobatis californica* de la parte norte del Golfo de California indican que esta especie alcanza longitudes máximas menores y tasas de crecimiento mayores en comparación con las reportadas en las costas de California. Estas diferencias podrían ser consecuencia de las características oceanográficas propias de las dos zonas de estudio y a una alta susceptibilidad a la presión por pesca.

- Álvarez-Borrego, S. 2003. Physical oceanography. En: T.J. Case, M.L. Cody y E. Ezcurra (eds). A new island biogeography of the Sea of Cortés. Oxford University Press, New York, NY., 41-59.
- Alvarez-Borrego, S., J.A. Rivera, G. Gaxiola-Castro, M.J. Acosta-Ruiz y R.S. Scwartzlose. 1978. Nutrients en el Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 5:21-36.
- Beamish, R.J. y D.A. Fournier. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38:982-983.
- Beltran-Felix, J.L., M. Gregory-Hammann, A. Chagoya-Guzman y S. Álvarez-Borrego. 1986. Ictiofauna del estero de Punta Banda, Ensenada Baja California, México, antes de una operación de dragado. *Ciencias marinas*. 12(1):79-92.
- Beverton, R.J. y S.J. Holt. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. Fisheries Investment U.K. Ministry of Agriculture and Fisheries, London, 2(19): 533 p.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías y R.E. Hueter. 2007. Artisanal fisheries and reproductive biology of the golden cownose ray, *Rhinoptera steindachneri* (Evermann and Jenkins, 1891), in the northern Mexican Pacific. *Fisheries Research*. 84:137-146.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías, J. Tyminskid y R.E. Hueterd. 2009. Temporal variation in the artisanal elasmobranch fishery of Sonora, México. *Fisheries Research*. 97(1-2):103-117.
- Busacker, G.P., A. Ira y G. Edwards. 1990. Growth. En: C.B. Schreck y P.B. Moyle (eds). Methods for Fish Biology. American Fisheries Society. Maryland, USA., 363-383p.
- Cailliet, G.M. y K.J. Goldman. 2004. Age determination and validation in chondrichthyan fishes. En: J. Carrier, J. A. Musick y M.R. Heithaus (eds.). Biology of sharks and their relatives. CRC Press LLC, Boca Raton, FL., 399-447 p.

- Cailliet, G.M., K.G. Yudin, S. Tanaka y T. Taniuchi. 1990. Growth characteristics of two populations of *Mustelus manazo* from Japan based upon crossreadings of vertebral bands. En: H.L. Pratt, S.H. Gruber, T. Taniuchi (eds). Elasmobranchs as living resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries. NOAA Technical Report NMFS 90: 167-176.
- Cailliet, G.M., L.K. Martin, D. Kusher, P. Wolf y B.A. Welden. 1983. Techniques for enhancing vertebral bands in age estimation of California elasmobranchs. En: E. D. Prince y L. M. Pulos (eds). Proceedings International Workshop on age determination of oceanic pelagic fishes: tunas, billfishes, sharks. NOAA Tech. Rep. NMFS, 8:157-165 p.
- Cailliet, G.M., R.L. Radtke y B.A. Welden. 1986. Elasmobranch age determination and verification: a review. En: T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi y K. Matsuura (eds.). Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the second international conference on Indo-Pacific Fishes. Ichthyological Society of Japan, Tokyo, 345-360 p.
- Cailliet, G.M., W.D. Smith, H.F. Mollet y K.J. Goldman. 2006. Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes*. 77:211-228.
- Campana, S.E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology*. 59:197-242.
- Campana, S.E., M.C. Annand y J.I. McMillan. 1995. Graphical and statistical methods for determining the consistency of age determinations. *Transactions of the American Fisheries Society*. 124:131-138.
- Carrier, J.C., J.A. Musick y M.R. Heithaus. 2004. Biology of sharks and their relatives. CCR Press. Boca Raton. 596 pp.
- Castillo-Géniz, J.L. 2007. Historia de vida y biología pesquera de la Raya, *Raja inornata* (Jordan y Gilbert, 1881) del norte del Golfo de California, México. Tesis de doctorado. CICESE. 237 pp.
- Castro-Aguirre, J. L., J. Arvizú-Martínez y J. Páez. 1970. Contribución al conocimiento de los peces del Golfo de California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. 31:107-181.

- Chang, W.Y.B. 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determination. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 39:1208-1210.
- Clement, J.G. 1992. Re-examination of the fine structure ofendoskeletal mineralization in Chondricthyes: implications for growth, ageing and calcium homeostasis. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*. 43:157-181.
- Compagno, L.J.V. 1999. Systematics and body form. En: W. C. Hamlett (ed.). Sharks, Skates, and Rays: the biology of elasmobranch fishes. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1-40 p.
- Conrath, C.L. 2004. Reproductive biology. En: Musick J.A y R. Bonfil (eds.), Elasmobranch fisheries management techniques. Asia Pacific Eco-nomic Cooperation, Singapore, 133-164 p.
- Cowley, P.D. 1997. Age and growth of the blue stingray *Dasyatis chrysonota chrysonota* from the South-Eastern Cape coast of South Africa. *South African Journal of Marine Science*. 18(1):31-38.
- Cuevas-Zimbrón, E. 2007. Estudio preliminar de edad y crecimiento de la manta de espina, *Mobula japónica* (Müller y Henle, 1841). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. México. 85 pp.
- Davis, J.C. 1986. Statistics and data analysis in geology. John Wiley & Sons. Segunda edición. New York. 646 pp.
- DeVries, D.R. y R.V. Frie. 1996. Determination of age and growth. En: B. R. Murphy y D.W. Willis (eds.). Fisheries Techniques. American Fisheries Society, Segunda edición, Bethesda, M.D., 483-512 p.
- Diario Oficial de al Federación, 6 de marzo de 2002. Norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001. Protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, lista de especies en riesgo. México. 153 pp.
- Diario Oficial de la Federación, 10 de junio de 1993. Decreto Presidencial por el que se declara área natural protegida con el carácter de Reserva de la Biósfera la región del "Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado". México. 10 pp.

- Ebert, D.A. 2003. Sharks, ray and chimeras of California. California Natural History Guides. University of California Press. Berkeley. 284 pp.
- Fabens, A.J. 1965. Properties and fitting of the von Bertalanffy growth curve. *Growth*. 29:265-289.
- Francis, R.I.C.C. 1990. Back-calculation of fish length: a critical review. *Journal of Fish Biology*. 36:883-902.
- Gallagher, M.J., C.P. Nolan y F. Jeal. 2004. Age, growth and maturity of the commercial ray species from the Irish Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fishery*. 35:47–66.
- Gallagher, M.J., M.J. Green y C.P. Nolan. 2006. The potential use of caudal thorns as a non-invasive ageing structure in the thorny skate (*Amblyraja radiate* Donovan, 1808). *Environmental Biology of Fishes*. 77:265-272.
- Goldman, K.J. 2004. Age and growth of elasmobranch fishes. En: J.A. Musick y R. Bonfil (eds). Elasmobranch fisheries management techniques. Asia Pacific Economic Cooperation, Singapore, 97-132p.
- Gray, A.E., T.J. Mulligan y R.W. Hannah. 1997. Food habits, occurrence, and population structure of the bat ray, *Myliobatis californica*, in Humboldt Bay, California. *Environmental Biology of Fishes*. 49:227-238 p.
- Haddon, M. 2001. Modelling and quantitative measures in fisheries. Chapman y Hall/CRC Press. Boca Raton, FL. 406 pp.
- Hammer O., D.A.T. Harper y P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistic software package for education an data analysis version 1.91. *Palaeontologia Electronica*. 4(1):9. http://folk.uio.no/ohammer/past.
- Holden, M.J. 1972. The growth rates of *Raja brachyura*, *R. clavata* and *R. Montagui* as determined from tagging data. *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer.* 34(2):161-168.
- Holden, M.J. 1974. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. En: F.R. Jones (ed). Sea Fisheries Research. Halstead Press/John Wiley & Sons, New York, 117–138.
- Holden, M.J. y M.R. Vince. 1973. Age validation studies on the centra of *Raja* clavata using tetracycline. Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer. 35(1):13-17.

- Hopkins, T.E. y J.J. Cech Jr. 2003. The influence of environmental variables on the distribution and abundance of three elasmobranchs in Tomales Bay, California. *Environmental Biology of Fishes*. 66:279-291.
- Hutchings, J.A. 2002. Life Histories of Fish. En: P.J.B. Hart y J.D. Reynolds. Handbook of Fish Biology and Fisheries. Blakcwell Publishing, Malden-Oxford, 1(7):150-180 p.
- Kopf, R., K. Drew y R.L. Humphreys Jr. 2008. A protocol for age estimation of striped and white marlin (Kajikia spp.) using fin spine cross-sections. En prensa. Collective Volume of Scientifics Papers (ICCAT), SCRS, 160-177.
- Lancelotti, J., C. Riva-Rossi y M. Arguimbau. 2003. Un método de bajo costo para el análisis automatizado de escamas. *Biología Acuática*. 20:84-87.
- Lessa, R.A., F. Marcante-Santana y P. Duarte-Neto. 2006. A critical appraisal of marginal increment analysis for assessing temporal periodicity in band formation among tropical sharks. *Environmental Biology of Fishes*.77:309-315.
- MacLennan, C.N. 1992. Fishing gear selectivity: an overview. *Fisheries Research*. 13(3):201-352.
- Márquez-Farias, J.F. 2007. Demografía del pez guitarra *Rhinobatos productus* (Ayres, 1854), del Golfo de California. Tesis de doctorado. CIBNOR. 147 pp.
- Martin, L.K. y G.M. Cailliet. 1988a. Age and growth determination of the bat ray, *Myliobatis californica* Gill, in central California. *Copeia*. (3):762-773.
- Martin, L.K. y G.M. Cailliet. 1988b. Aspects of the reproduction of the bat ray, *Myliobatis californica*, in Central California. *Copeia*. (3):754-762.
- Matern, S.A., J.J Cech y T.E. Hopkins. 2000. Diel movements of bat rays, *Myliobatis californica*, in Tomales Bay, California: evidence for behavioral thermoregulation? *Environmental Biology of Fishes*. 58:173-182.
- McEachran, J.D. y G. Notarbartolo di Sciara. 1995. Peces Batoideos. En: W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter y V.H. Niem (eds.). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Vértebrados. F.A.O., Roma, 2(1):647-1200 p.
- Miller, D.J. y R.N. Lea. 1972. Guide to the coastal marine fishes of California. *California Department of Fish and Game Fish Bulletin*. 157-249.

- Mollet, H.F., J.M. Ezcurra y J.B. O'Sullivan. 2002. Captive biology of the pelagic stingray, *Dasyatis violacea* (Bonaparte, 1832). *Marine Freshwater Research*. 53:531-541.
- Musick, J.A. y J.K. Ellis. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyes. En: W.C. Hamlett (ed.). Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes: sharks, batoids and chimaeras. Science Publishers Inc, Plymouth, UK., 3(3):45-79 p.
- Natanson, L.J. y G.M. Cailliet. 1990. Vertebral growth zone deposition in angel sharks. *Copeia*. 1133–1145.
- Natanson, L.J., N.E. Kohler, D. Ardizzone, G.M. Cailliet, S.P. Wintner y H.F. Mollet. 2006. Validated age and growth estimates for the shortfin mako, *Isurus oxyrinchus*, in the North Atlantic Ocean. *Environmental Biology of Fishes*. 77:367-383.
- Neer, J.A. y B.A. Thompson. 2005. Life history of the cownose ray, *Rhinoptera bonasus*, in the northern Gulf of Mexico, with comments on geographic variability in life history traits. *Environmental Biology of Fishes*. 73:321-331.
- Neer, J.A. y G.M. Cailliet. 2001. Aspects of the Life History of the Pacific Electric Ray, *Torpedo californica* (Ayres). *Copeia*. 3:842–847.
- Nikolsky, G.V. 1963. Ecology of fishes. Academic Press. London. 352 pp.
- Notarbartolo di Sciara, G., 1987. Myliobatiform rays fished in the southern Gulf of California (Baja California Sur, México) (Chondrichthyes: Myliobatiformes). Memorias del V Simposium sobre Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 109-115 p.
- Pitcher, T. J. y Hart H., 1982. Fisheries ecology. Chapman and Hall Press. London. 414 pp.
- Rasband, W. 2008. ImageJ 1.40g. National Institutes of Health, USA. http://rsb.info.nih.gov/ij/. Java 1.6.0\_05.
- Ridewood, W.G. 1921. On the calcification of the vertebral centra in sharks and rays. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 210B(8):311-407.
- Robles, S. 1985. Estudio geográfico de Baja California Sur. Gobierno del Estado de de Baja California Sur. México. 202 pp.

- Rodríguez-Lorenzo, S. 2007. Edad y crecimiento de la raya mariposa *Gymnura marmorata* del Alto Golfo de California, México. Tesis maestría. CICESE. 59 pp.
- Ryland, J.S. y T.O. Ajayi. 1984. Growth and population dynamics of three Raja species (Batoidei) in Carmarthen Bay, British Isles. *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer.* 41:111-120.
- Rypel, A.L. 2008. An Inexpensive Image Analysis System for Fish Otoliths. North American Journal of Fisheries Management. 28:193-197.
- Sandoval-Castillo, J.R. 2005. Estructura genética en poblaciones de batoideos dentro del Golfo de California y la costa Pacífico de la península de Baja California. Tesis de maestría. CICESE. 75 pp.
- Santana-Morales, O. 2005. Catalogo de tiburones, rayas y quimeras que habitan en las aguas del Norte del Golfo de California. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. 124 pp.
- Schawartz, F.J. 1983. Shark aging methods and age estimates of scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, and dusky, *Carcharhinus obscurus*, sharks based on vertebral ring counts. En: E.D. Prince y L.M. Pulos (eds.). Proceedings of the international workshop on age determination of oceanic pelagic fishes: tunas, billfishes, and sharks. NOAA Tech. Rep., NMFS 8: 167-174 p.
- Smith, W.D., G.M. Cailliet y E. Mariano-Melendez. 2007. Maturity and growth characteristics of a commercially exploited stingray, *Dasyatis dipterura*. *Marine and Freshwater Research*. 58:54–66.
- StatSoft, Inc. 2005. STATISTICA (Data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- Stevens, J.D., R. Bonfil, N.K. Dulvy y P.A. Walker. 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. ICES *Journal of Marine Science*. 57:476–494.
- Sulikowski, J.A., M.D. Morin, S.H. Suk y W.H. Howell. 2003. Age and growth estimate of the winter skate (*Leuoraja ocellata*) in the western Gulf of Maine. *Fishery Bulletin*. 101:405-413.
- Sulikowski, J.A.; J. Kneebone, S. Elzey, J. Jurek, P.D. Danley, W.H. Howell y P.C.W. Tsang. 2005. Age and growth estimates of the thorny skate

(Amblyraja radiata) in the western Gulf of Maine. Fishery Bulletin. 103:161-168.

- Tanaka, S., Yoshihisa, S., Hioki, S., Hidenao, A., Nishi, G., Yano, K. y K., Suzuki. 1990. The reproductive biology of the frilled shark, *Chlamydoselachus* anguineus, from Suruga Bay, Japan. Japanese Journal of Ichthyology, 37: 273-291.
- Timmons, M. y R.N. Bray. 1997. Age, growth, and sexual maturity of shovelnose guitarfish, *Rhinobatos productus* (Ayres). *Fishery Bulletin*. 95:349-359.
- Tovilla, H.C. 1991. Golfo de California. En: G. De la lanza-Espino (ed.) Oceanografía de mares mexicanos. A.G.T. México, D.F., 403-563 p.
- Urist, M.R., A.J. Mikulski, M. Nakagawa y K. Yen. 1977. A bone matrix calcification-initiator non-collagenous protein. *American Journal of Physiology*. 232:115-127.
- Villavicencio-Garayzar, C.J. 1996. Tallas, proporción de sexos y reproducción de Myliobatis californica y M. longirostris (Pisces: Myliobatidae) en Baja California Sur, México. Revista de Biología Tropical. 44(1):291-295.
- von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth (Inquiries on growth laws. II). *Human Biology*. 10:181-213.
- Walker, T.I. 2004. Management measures. En: J.A. Musick y R. Bonfil (eds.). Elasmobranch fisheries management techniques. Asia Pacific Economic Cooperation, Singapore, 285-321p.
- White, W.T., M.E. Platell y I.C. Potter. 2001. Relationship between reproductive biology and age composition and growth in *Urolophus lobatus* (Batoidea: Urolophidae). *Marine Biology*. 138:135-147.
- White, W.T., N.G. Hall y I.C. Potter. 2002. Reproductive biology and growth during pre and postnatal life of *Trygonoptera personata* and *T. mucosa* (Batoidea: Urolophidae). *Marine Biology*. 140:699-712.
- Zar, J. H. 1999. Bioestatistical Analysis. Prentice- Hall, Inc. Cuarta Edición. New Jersey. 929 pp.

## VIII. APENDICE

Ejemplos de imágenes digitales de las vértebras de *Myliobatis californica* utilizadas para la lectura de las bandas de crecimiento.





1) Imagen de una vértebra con 26 bandas hialinas contadas. Bandas cercanas al borde traslapadas.



2) Imagen de una vértebra con el borde hialino



3) Imagen de una vértebra con 4) Imagen de una vértebra con una diferencias en la longitud de sus tinción no uniforme. brazos.