

ANILLOS DE CRECIMIENTO DEL TOYO VIEJA *Mustelus henlei* (Familia: Triakidae): LA MEJOR TECNICA PARA SU LECTURA EN EL PACIFICO COLOMBIANO.

Biviam Beatriz Castaño Cárdenas

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali,

Colombia. correo electrónico:

biviam.castano@correounivalle.edu.com

Edgardo Londoño Cruz

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali,

Colombia. correo electrónico:

edgardo.londono@correounivalle.edu.com

José Gabriel Pérez Rojas

Fundación SQUALUS, Calle 10ª #72-35, Cali, Colombia

correo electrónico: jgperez@squalus.org

Resumen

El toyo vieja, *Mustelus henlei*, es una de las especies de tiburón que más se encuentran asociadas a capturas incidentales en la pesca artesanal en la región del Pacífico colombiano; sin embargo, se tiene poco conocimiento sobre su historia de vida, y de forma particular, en la estructura de edad de su población y su tipo de crecimiento. Si bien, para otras regiones se ha determinado la mejor técnica para visualizar las bandas de crecimiento, en el Pacífico colombiano no se ha definido ninguna. En elasmobranchios se han evaluado diversas técnicas para poder mejorar la visualización de las bandas de crecimiento en estructuras calcificadas, entre ellas se encuentran tinciones, histologías y radiografías. Cada técnica se debe evaluar en cada especie y localidad debido a la variación intra e interespecífica en la acumulación de sales de calcio y fosfatos de las estructuras calcificadas, lo cual puede generar una respuesta diferente a la técnica usada en diferentes especies y regiones. De este modo, el objetivo principal de este trabajo es determinar la mejor técnica de visualización de las bandas de crecimiento en vértebras de *M. henlei* en el Pacífico colombiano, con el fin de poder aportar información que puede ser usada como insumo para futuros estudios sobre su historia de vida. Las muestras utilizadas provenían de desembarcos de la pesca artesanal de Buenaventura, Tumaco, Guapi, Nuquí y Bahía Solano entre los años 2020 y 2022. Cada muestra fue seccionada, montada y medida para poder ser clasificada en uno de tres tamaños (pequeñas $\leq 4,99$ mm, medianas ≤ 9 mm y grande > 9 mm). Las muestras fueron expuestas a diferentes tratamientos, donde se incluye exposición al aceite de inmersión, sin tinción, con agua y con cinco tintes, rojo de alizarina (RA), azul de metileno (AM), verde claro (VC), cristal violeta (CV) y marrón de Bismark (MB), a diferentes tiempos. De esta evaluación se concluye que la mejor técnica para la visualización de bandas de crecimiento en vértebras de *M. henlei* en el Pacífico colombiano varía según el tamaño de la vértebra: para pequeñas es

mejor RA por 5 minutos, para medianas el VC por 9 minutos y en grandes RA por 6 minutos. Estos resultados confirman la importancia de evaluar y definir un protocolo especie específico para la visualización de las bandas de crecimiento en estructuras duras en tiburones, y de este modo tener una mejor precisión en las lecturas y estimaciones de edad.

Palabras clave: vértebra, tiburón, edad, anillos de crecimiento y tinción.

ABSTRACT

The toyo vieja, *Mustelus henlei*, is one of the shark species most frequently associated with bycatch in artisanal fisheries in the Colombian Pacific region; however, there is little knowledge about its life history, and in particular, about the age structure of its population and its growth rate...although the best technique to visualize the growth bands has been determined for other regions, none has been defined in the Colombian Pacific. In elasmobranchs, several techniques have been evaluated to improve the visualization of growth bands in calcified structures, such as staining, histology and radiography. Each technique must be evaluated in each species and locality due to the intra- and interspecific variation in the accumulation of calcium salts and phosphates in calcified structures, which may generate a different result to the technique used in different species and regions. Therefore, the main objective of this work is to determine the best technique to visualize the growth bands in vertebrae of *M. henlei* in the Colombian Pacific, to provide information that will be used as input for future studies on their life history. The specimens used came from small-scale fishery landings in Buenaventura, Tumaco, Guapi, Nuquí and Bahía Solano between 2020 and 2022. Each exemplar was sectioned, fixed, and measured to be classified into one of three sizes (small ≤ 4.99 mm, medium ≤ 9 mm and large > 9 mm). The specimens were exposed to different treatments, which included exposure to immersion oil, no staining, water and five dyes, alizarin red (AR), methylene blue (MB), light green (VC), crystal violet (CV) and Bismark brown (MB), at different times. From this evaluation it is concluded that the best technique for visualization of growth bands in *M. henlei* vertebrae in the Colombian Pacific varies according to the sizes of the vertebrae: for small vertebrae is better to use RA for 5 minutes, for medium vertebrae VC for 9 minutes and in large vertebrae RA for 6 minutes. These results confirm the importance of evaluate and define a species-specific protocol for the visualization of growth bands in hard structures in sharks, to have a better precision in the readings and age estimations.

Key words: vertebrae, shark, age, growth rings and staining.

INTRODUCCIÓN

La clase Chondrichthyes está compuesta aproximadamente por 1188 especies, que comprenden 16 órdenes, 61 familias y 199 géneros de los cuales 9 órdenes, 34 familias, 105 géneros y 509 especies son de tiburones (Weigmann, 2016). Los condriictios se caracterizan, entre otras cosas, por presentar esqueleto cartilaginoso, escamas placoideas y carecer de vejiga natatoria (Vazquez-Calderon, Acosta-Guerrero and Anislado-Tolentino, 2017). Junto a las rayas, los tiburones son uno de los grupos marinos más amenazados ya que son explotados a nivel mundial. De ellos se usa su carne, hígado, piel y aletas, entre otros; con

fines alimenticios, cosméticos y culturales. Todo esto, aunado a los altos valores comerciales de sus aletas, propicia su sobrepesca lo que conlleva a una disminución en sus tamaños poblacionales (Musick J.A., 2005; Puentes *et al.*, 2009), además de ser uno de los grupos que mas se encuentran como fauna acompañante en las faenas. Sumado a la sobrepesca, los tiburones son un grupo altamente vulnerable ya que, comparado con los peces teleósteos, su gestación es larga, la madurez sexual es tardía y; presentan un bajo número de crías (Frisk, Miller and Dulvy, 2005; Gonzáles Toro, 2020).

En los condricios los estudios de edad están basados en el conteo de las bandas de crecimiento observadas en estructuras duras ya que son un indicador preciso de la edad (Cailliet and Goldman, 2004; Pérez-Rojas *et al.*, 2020). Esta se puede definir como la descripción cuantitativa del tiempo que un organismo ha vivido (Torres-Palacios, 2015), y el proceso de evaluación de la acumulación de carbonato de calcio en la zona de crecimiento en peces puede categorizarse como verificación o validación. La verificación es la confirmación de una estimación de edad mediante la comparación con otros métodos indeterminados, mientras la validación es la demostración de la exactitud de las estimaciones de edad mediante la comparación con un método determinado (Cailliet, 1990).

En elasmobranquios se han utilizado diversos métodos y estructuras para estimar la edad y el crecimiento (Cailliet, Radtke and Welden, 1986; Cailliet and Goldman, 2004). El método más usado es el conteo de pares de bandas de crecimiento, anchas y estrechas en estructuras duras, tales como espinas dorsales, espinas caudales, arcos neurales y centros vertebrales (Araya and Cubillos, 2002; Cailliet and Goldman, 2004). Los pares de bandas han sido tradicionalmente relacionados, con épocas de crecimiento rápido y mayor acumulación de CaCO_3 y épocas de crecimiento lento y menor acumulación de CaCO_3 (Cailliet *et al.*, 2006).

Los pares de bandas de crecimiento en estructuras calcificadas son el resultado de la acumulación de sales de calcio y fosfatos, siendo diferentes entre individuos, tanto intra como inter-específicamente, ya que dependerán del funcionamiento fisiológico del organismo y la disponibilidad de estos elementos en el ambiente (Cailliet and Goldman, 2004; Cailliet *et al.*, 2006; Porter, Koob and Summers, 2007; Bernal Gutiérrez, 2017) por lo que el proceso desarrollado para determinar de forma precisa la edad es especie-especifico (Bernal Gutiérrez, 2017; Pérez-Rojas *et al.*, 2020). Dado a que la visibilidad de las bandas muchas veces no es la mejor, se han desarrollado diversas técnicas para corregir esto, entre las que se encuentran diferentes grosores de corte, uso de tintes, diferentes tiempos de tinción, impregnación con alcohol o nitrato de plata, uso de rayos x, histología, entre otras (Cailliet *et al.*, 1983, 1990). De las técnicas ya mencionadas, la tinción ha sido la más usada, dado que es el procedimiento de menor dificultad y costo (Pérez-Rojas *et al.*, 2020)

Los tiburones del género *Mustelus* pertenecen a la familia Triakidae, la cual cuenta con 29 especies en el mundo. Este género se encuentra ampliamente distribuidos en los mares tropicales, templados y fríos, desde aguas someras hasta 280 metros de profundidad (Moncada Rosas, 2021). Según la UICN (2023) la mayoría de las especies pertenecientes a este género se encuentran en peligro (CR, EN, VU y NT) y con su población en descenso. Para el Pacífico colombiano se han registrado 36 especies de tiburones, confirmadas por

medio de registro fotográfico y evidencias físicas de las cuales 7 pertenecen al género *Mustelus*: *M. dorsalis*, *M. henlei*, *M. lunulatus*, *M. canis*, *M. bigmani*, *M. minicanis* y *M. norrisi* (Mejía-Falla and Navia, 2019). La especie de interés (*Mustelus henlei*) se encuentra distribuida en la costa oriental del océano Pacífico, desde el norte de California en Estados Unidos, incluyendo el Golfo de California, hasta Perú (Bustamante Duarte, 2007; Silva Santos, 2012). Esta especie se alimenta principalmente de crustáceos como cangrejos, camarones, estomatópodos e isópodos, pero también de moluscos, calamares, poliquetos, tunicados y peces óseos pequeños como gobios, anchoas y lenguados (Gómez et al., 2003). Esta especie es vivípara matrotrofica y que puede llegar a tener hasta 21 crías por camada y una duración de vida promedio de 15 años (Bustamante Duarte, 2007; Méndez Loeza, 2008; Silva Santos, 2012). Según la UICN (2023) su estado es de menor preocupación y no se conoce la tendencia de la población.

En el Pacífico colombiano una de las especies con mayor interacción en pesca artesanal es *M. henlei* por lo que la tasa de captura incidental es muy alta, a lo largo del año, principalmente por la pesca de camarón con malla de arrastre (Bustamante Duarte, 2007). Ante su alta tasa de captura incidental y su importancia ecológica, estudios que permitan conocer más sobre la especie y su historia de vida son importantes para poder contribuir a la generación de estrategias de manejo y conservación adecuadas (Castellanos-Galindo et al., 2021; Moncada Rosas, 2021). En este sentido, los estudios de edad son importantes ya que aportan información que permitirá estimar la dinámica de crecimiento poblacional y sus parámetros como proporción de edades y sexos, tasa de crecimiento, entre otros. Estos datos son primarios para estudios demográficos los cuales ayudan a conocer el estado de la población y su vulnerabilidad, y que a su vez sirven para realizar una correcta evaluación de los recursos y el manejo de la especie (Puentes-Salazar, 2014). Pese a su importancia, los estudios de edad y crecimiento que se han realizado para tiburones en el trópico son menores en comparación con los de agua frías y templadas (Pérez-Rojas et al., 2020).

Teniendo en cuenta que determinar la técnica de visualización para pares de bandas se provee información que servirá para estudios más precisos de edad. En los estudios de edad y crecimiento reportados para la especie se han usado dos métodos diferentes para la visualización de los pares de bandas. En California central la mejor técnica fue las radiografías vertebrales (Yudin and Cailliet, 1990), mientras que en el Golfo de California los mejores resultados se obtuvieron con tinción con cristal (Méndez Loeza, 2008). Para el Pacífico colombiano se encuentran estudios sobre su alimentación (Gómez et al., 2003; Franco-Moreno, 2008; Amariles, Navia and Giraldo, 2017), recursos pesqueros (Bustamante Duarte, 2007), ecología trófica (Amariles Agredo, Navia and Giraldo, 2014) y concentración de mercurio (Vélez et al., 2021).

Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la mejor técnica de visualización de pares de bandas de crecimiento en vértebras de *M. henlei* en el Pacífico colombiano.

MÉTODOS

Recolección de muestras

La Fundación SQUALUS y la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP) con el apoyo de WCS Colombia y Shark Conservation Fund, llevaron a cabo el proyecto “Evaluación de la historia de vida y herramientas biológico-pesqueras para el manejo y reducción de la incidencia de tiburones y rayas en la pesca artesanal en Colombia” (Convenio 210 de 2020). De este proyecto se obtuvieron las muestras de *Mustelus henlei* provenientes de desembarcos de la pesca artesanal (trasmallo y anzuelos: línea de mano y espinel) a lo largo del Pacífico colombiano (Buenaventura, Tumaco, Guapí, Nuquí y Bahía Solano; (Fig. 1) durante los años 2020 y 2021. Adicionalmente, durante el año 2022 se obtuvieron más muestras a partir del proyecto “Investigación para sostenibilidad de la pesca artesanal en el Departamento del Chocó” el cual se encuentra en desarrollo por parte de la Fundación SQUALUS en conjunto con la Universidad del Valle, la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, la Universidad Tecnológica del Chocó y el apoyo de la Gobernación del Chocó y el Sistema General de Regalías.

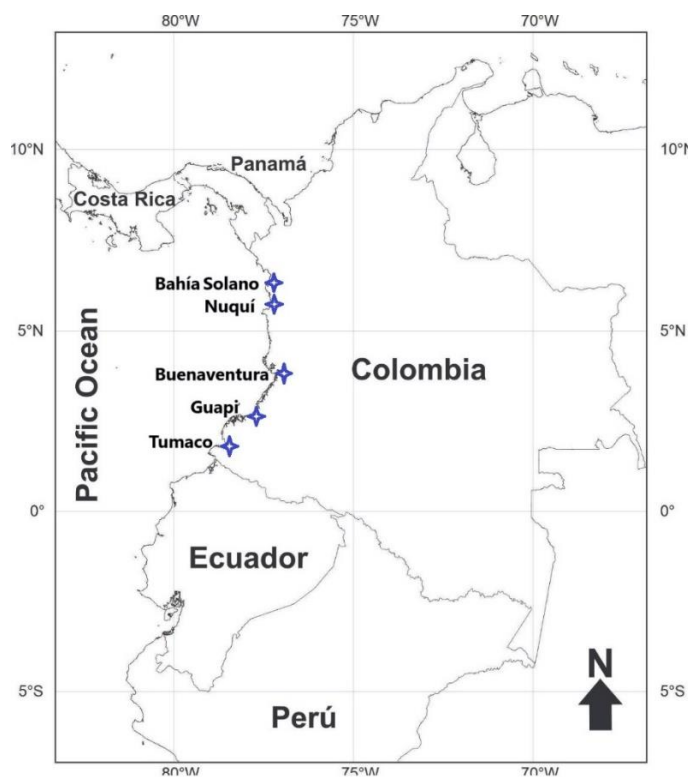


Figura 1. Mapa donde se pueden observar las cinco regiones del Pacífico colombiano de las cuales se recolectaron las muestras.

Cada individuo capturado o desembarcado, proveniente de faenas de pesca artesanal, fue sexado, pesado (W, gr) y medido en su longitud total (Lt, cm) y del tronco (Ltr, cm), para tener información que servirá en otros estudios. Posteriormente, se extrajo parte de la columna vertebral de la zona abdominal del animal. Esta fue rotulada y congelada para su posterior procesamiento en el laboratorio.

Preparación y montaje de las vértebras

Cada vértebra se limpió (para remover el exceso de músculo, arco neural y tejido conectivo) manualmente con un bisturí. Posteriormente, se fijaron tres vértebras (del mismo individuo) en un portaobjetos con Crystalbond 509. Se midieron con un calibrador electrónico y se cortaron sagitalmente con una cortadora de baja velocidad generando un corte tipo corbatín (bow-tie), de 0.5 mm de grosor, siguiendo las recomendaciones de (Pérez-Rojas et al., 2020), para el trabajo con vértebras de tiburones.

Determinación de la técnica de visualización de las bandas de crecimiento

De las muestras que ya habían pasado por el proceso de preparación y montaje se eligieron aleatoriamente 10 individuos de cada tamaño de vértebras (pequeñas menores o igual 4,99 mm, medianas entre 5 y 9 mm y grandes superiores a 9 mm) para ser expuestos a cuatro procedimientos: sin tinción (ST), aceite de inmersión (AI), agua (AG) y tinción. Los tintes utilizados fueron: rojo de Alizarina (RA), verde claro (VC), azul de metileno (AM), marrón de Bismarck (MB) y cristal violeta (CV). Para las tinciones, cada vértebra fue sumergida en un tinte hasta completar 10 minutos, cada minuto se sacaba para tomar una foto. Algunas vértebras al completar los 10 minutos se volvían a sumergir durante otros 10 minutos para observar si había un cambio cualitativamente significativo entre estos dos tiempos (10 y 20 minutos), esto se realizó para cada tinte (Tabla 1). Al exponerse la vértebra a los diferentes tratamientos seguidamente era observada y fotografiada para poder llevar a cabo la lectura de pares de bandas para cada individuo.

Tabla 1. Cantidad de vértebras evaluadas por tinte y por tiempo en total para cada tamaño. Teniendo en cuenta que todas se evaluaron de la misma manera con agua, aceite de inmersión y sin tinción.

Tinte	Cantidad de vértebras					
	10 minutos			20 minutos		
	Pequeña	Mediana	Grande	Pequeña	Mediana	Grande
Rojo de alizarina (RA)	2	2	6	8	8	4
Verde claro (VC)	1	3	5	9	7	5
Azul de metileno (AM)	2	1	7	8	9	3
Marrón de Bismarck (MB)	1	1	6	9	9	4
Cristal violeta (CV)	1	0	7	9	10	3

Lectura de bandas de crecimiento y medición de las vértebras

Las vértebras tratadas fueron observadas y fotografiadas por medio del software Image-Pro-Plus 7.0 en un estereoscopio trinocular con cámara integrada bajo luz transmitida. Las bandas de crecimiento se contaron por dos lectores independientes sin conocimiento del tamaño y el sexo de los animales, para evitar sesgos. Con el fin de mejorar la precisión y minimizar errores el conteo de bandas se llevó a cabo de la siguiente manera: primero se identificó la presencia del par de bandas de crecimiento (una estrecha y una ancha), después se reconoció y determino la presencia de la banda de nacimiento y por último se enumeraron las bandas elegidas por los lectores.

Tratamiento de los resultados y análisis estadístico

Precisión y sesgo de las lecturas

Porcentaje de vértebras leídas (%VL) hace referencia a la proporción de vértebras en las que se logró cuantificar las bandas de crecimiento con respecto al total de vértebras que se tenían para cada tamaño y se usa para evaluar si la metodología en el tratamiento de las muestras fue la apropiada para poder tener una mejor visibilidad de las bandas de crecimiento.

$$\%VL = \frac{\text{Numero de vertebras leidas}}{\text{Numero total de muestras}} * 100$$

Porcentaje de error promedio (APE) (Beamish and Fournier, 1981) para determinar el nivel de precisión de la lectura efectuada por los lectores.

$$APE = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \left[\frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|x_{ij} - \bar{x}_j|}{\bar{x}_j} \right] * 100$$

Donde: x_{ij} es la i ésima lectura para el individuo j , $\bar{x}_j$ es el promedio del número de pares de bandas de crecimiento del individuo j , R es el número de lectores y n el número total de lecturas por tratamiento y tamaño de vértebra

Porcentaje de acuerdo entre lectores (PA) (Goldman, 2005) indica la cantidad de veces donde ambos lectores contaron la misma cantidad de bandas de crecimiento y sirve para estimar la variación en la lectura de bandas entre los lectores.

$$PA = \frac{\text{Numero de acuerdo entre lectores}}{\text{Numero de lecturas}} * 100$$

Coefficiente de variación (CV) (Chang, 1982) permite medir la precisión de las lecturas.

$$CV = \left[\frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \left(\frac{\sqrt{\sum_{i=1}^R \frac{(x_{ij} - \bar{x}_j)^2}{R}}}{\bar{x}_j} \right) \right]$$

Gráfico de sesgo por edad (Campana, Annand and McMillan, 1995) para evaluar la precisión de la lectura entre los lectores, tiene en cuenta el número de bandas leídas por cada lector.

Prueba de simetría de Bowker (Hoenig, Morgan and Brown, 1995) determina si las diferencias en las lecturas entre los lectores son de manera sistemática o se dan producto al azar.

RESULTADOS

Cada tamaño de vértebra fue sometido mínimo a 53 tratamientos (ST, AI, AG, 5 tintes evaluados a 10 tiempos diferentes), y máximo a 58 (cuando todos los tintes se evaluaron hasta 20 minutos), analizando en total 1694 fotos de 573 vértebras pequeñas, 572 a vértebras medianas, y 549 a vértebras grandes. Las abreviaciones de los tratamientos que se realizaron con tintes van seguidas de la cantidad de minutos que estuvo sumergida la vértebra, un ejemplo de ellos es: AM2 hace referencia al tratamiento azul de metileno por 2 minutos de inmersión.

El porcentaje de vértebras leídas (%VL) para las vértebras pequeñas expuestas al agua (AG), aceite de inmersión (AI) fue del 100% mientras que sin tinción (ST) fue del 90%. En cuanto a los tintes, la cantidad de tratamientos que permitieron leer la totalidad de las vértebras fue: 33 para pequeñas (tabla 2A), 35 en medianas (tabla 2B) y 10 en grandes (tabla 2C). En vertebras medianas, AG, AI y ST presentaron un 100% en las lecturas. En vértebras grandes AG y AI permitieron leer la totalidad de las vértebras mientras ST el 70%. El menor porcentaje de vértebras leídas fue 60%, en medianas por el tratamiento MB3, mientras en grandes por los tratamientos RA2-3-10, MB4-5, VC4-7-8-9 y CV1. Por otra parte, el tratamiento rojo de alizarina por 20 minutos (RA20) presentó el mismo porcentaje de lectura en vértebras medianas y grandes, 87.5%.

Tabla 2. Compilado de los porcentajes de lectura de los 5 tintes con respecto a los diferentes tiempos evaluados. Los resultados son en porcentaje.

A)

Tiempo	Vértebras pequeñas				
	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	80	100	80	90	90
2	100	100	100	90	100
3	90	100	100	90	100
4	100	100	90	90	100
5	100	100	80	90	100
6	100	100	100	90	100
7	100	100	100	90	90
8	100	100	100	90	100
9	90	100	90	90	100
10	90	100	90	90	90
20	87.5	100	90	100	100

B)

Vértebras medianas					
Tiempo	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	80	100	70	80	100
2	80	100	80	90	90
3	90	90	60	100	100
4	100	100	90	100	100
5	100	100	70	100	100
6	80	100	70	100	100
7	90	100	100	100	100
8	100	90	90	90	100
9	100	90	80	100	100
10	100	100	90	100	100
20	87.5	100	77.78	100	100

C)

Vértebras grandes					
Tiempo	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	70	80	80	70	60
2	60	90	70	80	70
3	60	90	770	80	80
4	80	100	60	60	80
5	80	90	60	70	80
6	70	90	70	80	80
7	70	90	80	60	80
8	70	100	70	60	80
9	70	100	80	60	90
10	60	100	70	70	90
20	100	100	75	100	100

El porcentaje de acuerdo (%PA0-0) en vértebras pequeñas RA5 fue de 90%, RA3 = 89% y MB5 = 88% (tabla 3A). En vértebras medianas el mayor porcentaje de acuerdo, 50%, se obtuvo con el VC9, seguido del RA7 con 44% y MB1 con un 43% (tabla 3B). Para las vértebras grandes CV20 tuvo un porcentaje de acuerdo de 67%, seguido de RA6 con 57% y MB7 con un 50% (tabla 3C).

Tabla 3. Compilado de los porcentajes de acuerdo entre lectores de los 5 tintes con respecto a los diferentes tiempos evaluados. Los resultados son en porcentaje. Los mejores resultados para cada tamaño de vértebra se encuentran resaltados.

A)

Vértebras pequeñas					
Tiempo	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	88	80	38	33	44
2	80	20	70	44	70
3	89	30	30	44	70
4	80	40	44	44	70

5	90	30	88	67	60
6	70	50	40	22	60
7	50	40	60	44	56
8	70	40	50	33	60
9	78	20	56	44	70
10	67	30	56	44	67
20	71	33	33	22	78

B)

Vértebras medianas					
Tiempo	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	25	10	43	13	0
2	25	30	25	11	22
3	0	22	17	10	10
4	20	20	22	20	10
5	20	40	14	20	40
6	13	40	14	20	40
7	44	20	30	30	30
8	30	22	11	33	10
9	20	0	13	50	30
10	30	0	11	20	10
20	14	11	29	14	20

C)

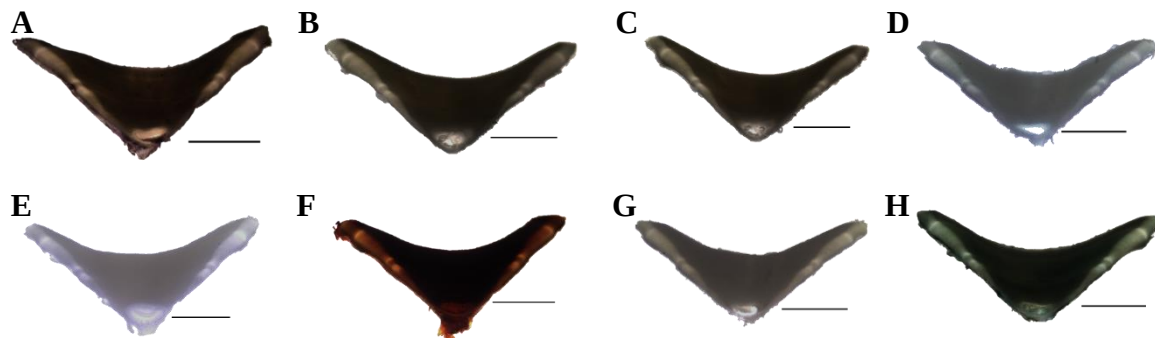
Vértebras grandes					
Tiempo	Rojo de alizarina (RA)	Azul de metileno (AM)	Marrón de Bismarck (MB)	Verde claro (VC)	Cristal violeta (CV)
1	0	38	13	14	33
2	33	22	29	38	29
3	17	22	43	25	13
4	13	20	33	33	13
5	38	22	50	43	13
6	57	11	14	25	44
7	43	33	50	17	25
8	43	20	43	17	13
9	29	30	13	17	22
10	33	30	29	14	11
20	25	33	0	20	67

En los análisis de precisión y sesgo APE y CV en vértebras pequeñas, los tratamientos MB5 y RA1 presentaron los mismos resultados de precisión, 1.786 y 1.546, seguido del tratamiento RA5 que obtuvo 3.333 y 2.887 en estos análisis. Para vértebras medianas, el tratamiento con resultados más precisos fue RA7 con 8.422 y 7.923 en APE y CV, después de este tratamiento los otros dos más precisos son VC9 con 8.730 y 7.561 y RA2 con 9.271 y 8.029. Para vértebras grandes, el tratamiento RA7 fue el más preciso con 8.298 y 7.187, seguido del

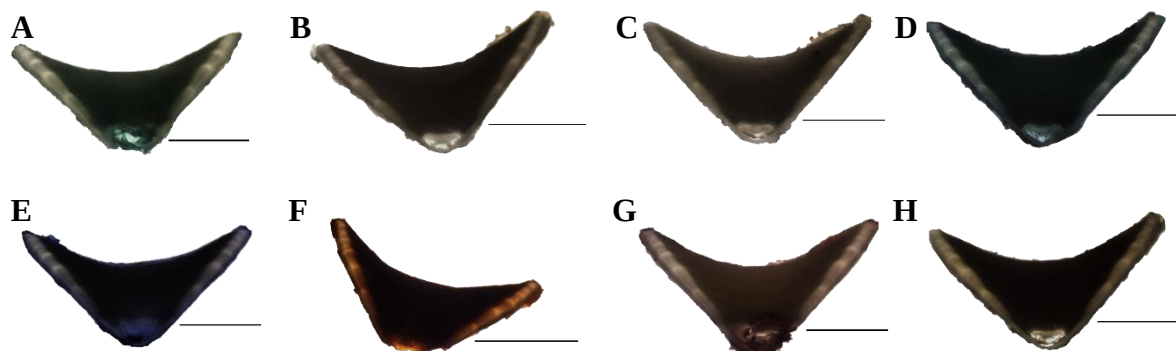
tratamiento CV1 con 8.552 y 7.406 de APE y CV, y por último el tratamiento RA6 con 8.730 y 7.561 para los análisis (tabla 4).

En cuanto a la prueba de simetría de Bowker la mayoría de las diferencias en las lecturas fueron producto del azar, exceptuando VC1 para vértebras pequeñas, AM10 en vértebras medianas y VC10 en vértebras grandes, las cuales dieron diferencias en las lecturas con errores sistemáticos.

Vértebras Grandes



Vértebras medianas



Vértebras pequeñas

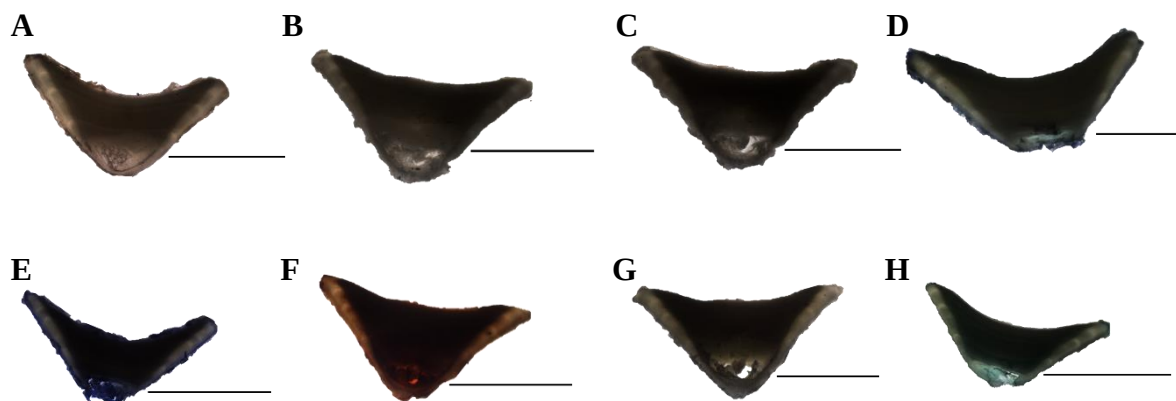


Figura 2. Sección de vértebras para cada tamaño donde se pueden ver los resultados con varios tratamientos siendo A, en cada tamaño, el mejor tratamiento. La barra de escala corresponde a 1 cm. Vértebras grandes: A) RA6, B) AI, C) AG, D) AM6, E) CV6, F) MB6, G) ST, H) VC6. Vértebras medianas: A) VC9, B) AI, C) AG,

D) AM9, E) CV9, F) MB9, G) RA9, H) ST. Vérttebras pequeñas A) RA5, B) AI, C) AG, D) AM5, E) CV5, F) MB5, G) ST y H) VC5.

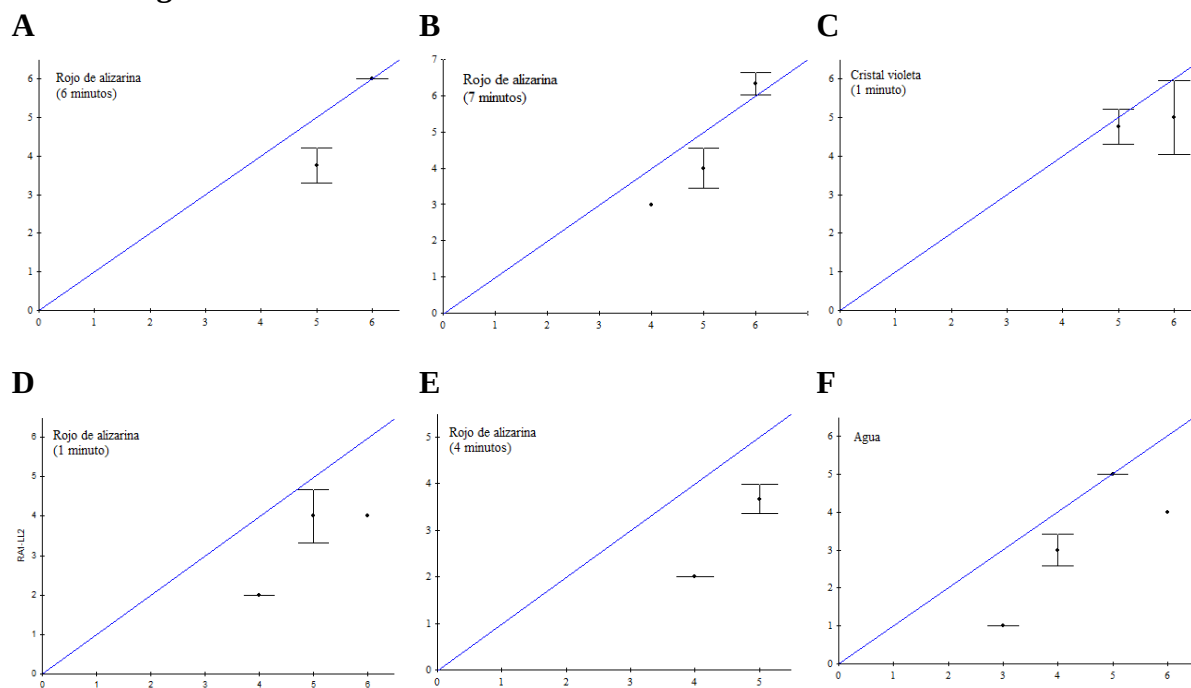
Al compararse los 58 tratamientos para los tres tamaños de vértebras se evidenció que RA5 es el mejor tratamiento de visualización para vértebras pequeñas, VC9 para vértebras medianas y RA6 para vértebras grandes (Fig. 2A). Esto debido a que para vértebras pequeñas el RA5 presentó los mejores valores en %PA0-0 y en %VL; sin embargo, MB5 y RA1 tuvieron mejores resultados de APE y CV. A pesar de ello, los %PA0-0 son más bajos, 88%, para estos dos tratamientos (tabla 4). Además de que, en términos del desgaste proporcionado a los equipos, MB5 presentó un mayor requerimiento de luz transmitida para poderse efectuar la lectura de las bandas en comparación con RA5. En vértebras medianas el RA7 presentó los mejores valores de APE y CV; sin embargo, el VC9 presentó unos valores similares, obtuvo el mayor %PA0-0 y permitió leer la totalidad de las vértebras (tabla 4). En vértebras grandes RA7 y CV1 tuvieron los mejores resultados de APE y CV, a pesar de ello RA6 presenta un valor cercano de APE y CV, pero tiene un mejor porcentaje de acuerdo y el mismo porcentaje de vértebras leídas que RA7 (tabla 4).

Tabla 4. Resumen de los resultados de selección del mejor tratamiento para cada tamaño de vértebra con base en los factores de evaluación, porcentaje de vértebras leídas, porcentaje de acuerdo (%PA0-0) y los análisis de precisión y sesgo (APE, CV y simetría de Bowker). El mejor tratamiento se encuentra en negrilla.

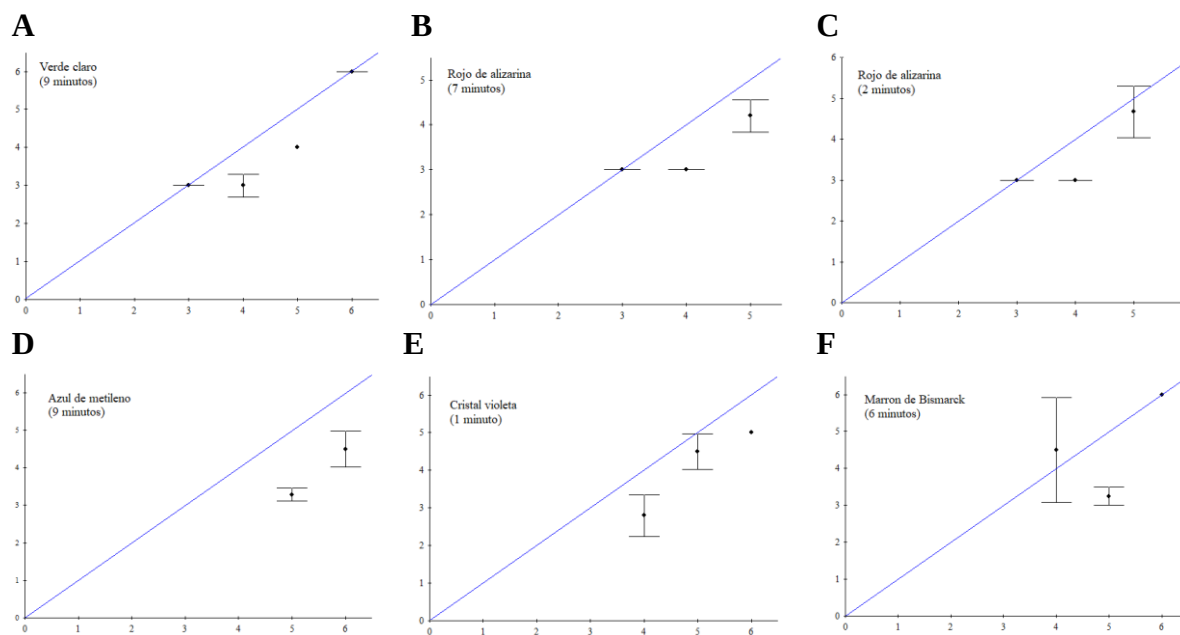
Tamaño	Tratamiento	VL (%)	PA0-0 (%)	A. Precisión y sesgo		
				APE	CV	S. Bowker
Pequeña	MB5	80	88	1.786	1.546	Aleatorio
	RA1	80	89	1.786	1.546	Aleatorio
	RA5	100	90	3.333	2.887	Aleatorio
Mediana	RA7	90	44	8.422	7.923	Aleatorio
	VC9	100	50	8.730	7.561	Aleatorio
	RA2	80	25	9.271	8.029	Aleatorio
Grande	RA7	70	43	8.298	7.187	Aleatorio
	CV1	60	33	8.552	7.406	Aleatorio
	RA6	70	57	8.730	7.561	Aleatorio

En comparación con los resultados de evaluación de precisión y sesgo realizados para los tratamientos se ven reflejados en los gráficos de sesgo por edad una mayor dispersión. Para cada tamaño de vértebra el tratamiento seleccionado muestra unas lecturas más precisas, similar, entre los dos lectores (Fig. 3). En vértebras grandes se evidencia un menor sesgo en las lecturas con conteos de 6 bandas en los dos mejores tratamientos. En vertebras medianas se presenta un sesgo nulo al contar tres bandas con los tres mejores tratamientos. En vértebras pequeñas se presenta un sesgo casi nulo en el conteo de una y tres bandas.

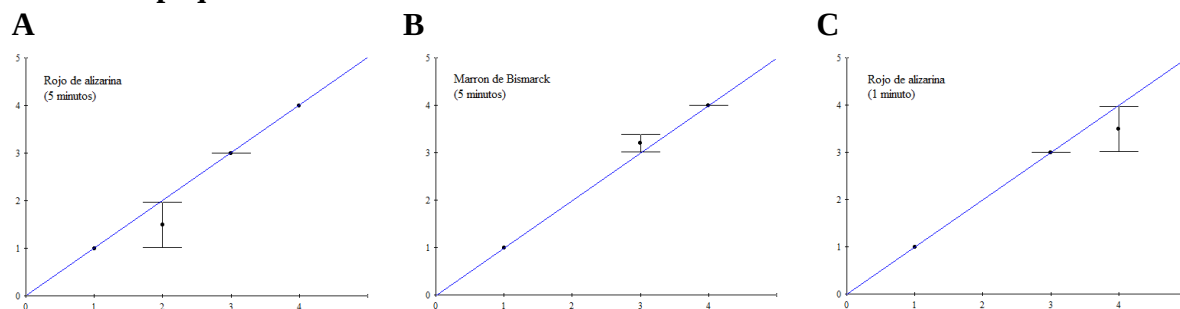
Vértebras grandes



Vértebras medianas



Vértebras pequeñas



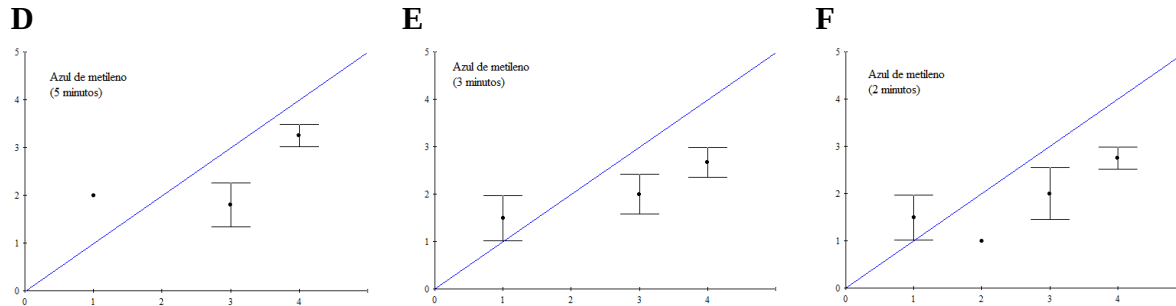


Figura 3. Gráficos de sesgo por edad donde se muestran los tres mejores tratamientos (A, B y C) y los tres menos favorables (D, E y F) para cada tamaño de vértebra. El eje X son los conteos del lector con más experiencia (lector 1) mientras el eje Y los conteos del lector menos experimentado (lector 2).

DISCUSIÓN

El uso del rojo de alizarina como tinte para mejorar la visualización de las bandas de crecimiento en especies del género *Mustelus* es muy variado (tabla 5), debido a que en algunos estudios este tinte proporcionó los mejores resultados para el conteo de bandas de crecimiento (Escobedo Olvera, 2006), en otros donde también fue la mejor técnica para la visualización de los pares de bandas fue requerido otros componentes o varias horas para lograr una visualización más clara (Brown and Hoenig, 1988). Por otra parte, en otros estudios el tinte rojo de alizarina fue de los menos efectivos (Cailliet et al., 1983). En cuanto al uso del verde claro no ha sido muy experimentado en especies del género; sin embargo, al igual que se encontró en este trabajo para vértebras medianas con este tinte a nueve minutos, el verde claro a 40 minutos fue el tratamiento que mejor permitió la correcta visualización y precisión de conteo de pares de bandas en *M. lunulatus* para el Pacífico colombiano (Pérez-Rojas et al., 2020).

Tabla 5. Resumen de técnicas y tratamientos utilizados para la visualización de pares de bandas para algunas especies de *Mustelus*. RA hace referencia a rojo de alizarina, VC a verde claro, CV a cristal violeta, NP a nitrato de plata, AM a azul de metileno; VG a vértebras grandes, VM a vértebras medianas y VP a vértebras pequeñas. El numero acompañante al tinte corresponde al tiempo de exposición que se tuvo.

Especie	Fuente	Técnica utilizada	Tratamiento
<i>M. henlei</i>	Este estudio	Tinción	RA6 (VG), VC9 (VM) y RA5 (VP)
<i>M. henlei</i>	Yudin and Cailliet, 1990	Radiografía	-
<i>M. henlei</i>	Méndez Loeza, 2008	Tinción	CV30
<i>M. lunulatus</i>	Ramírez R., Pérez R. and Giraldo L., 2023	Tinción	VC40
<i>M. lunulatus</i>	Escobedo Olvera, 2006	Tinción	RA1-2
<i>M. californicus</i>	Bernal Gutiérrez, 2017	Tinción	CV, NP, AM y VC
<i>M. asterias</i>	Farrell et al., 1992	Rinsed	Agua
<i>M. antarcticus</i>	Moulton, Walker and Saddler, 1992	Tinción	RA2-30

<i>M. manazo</i>	Yamaguchi et al., 1997	Radiografía	-
<i>M. canis</i>	Conrath, Gelsleichter and Musick, 2002	Impregnación	Etanol 70%

Por otra parte, en comparación con los resultados obtenidos por Méndez-Loeza (2008) para la especie en estudio, *M. henlei*, en la región norte de California, donde el tratamiento que utilizó para la visualización de los pares de bandas fue cristal violeta por 30 minutos (CV30) para todas las vértebras, en el presente estudio los resultados de APE y CV no fueron tan efectivos, exceptuando el tratamiento elegido para las vértebras pequeñas (tabla 6).

Tabla 6. Resultados de pruebas de precisión y sesgo del estudio de Méndez-Loeza y el presente estudio.

Lector	Tamaño	Tratamiento	APE	CV
1	-	CV30	8.39	0.110
2	-	CV30	7.64	0.099
1 y 2	Pequeña	RA5	3.33	2.89
1 y 2	Mediana	VC9	8.73	7.56
1 y 2	Grande	RA6	8.73	7.56

Sin embargo, al revisar los resultados del tratamiento más cercano al de Méndez-Loeza (2008) que se evaluó en este estudio, cristal violeta por 20 minutos, los resultados son menos precisos ya que presentan valores menos favorables en APE, CV y %PA0-0, salvo en vertebras grandes donde %VL y %PA0-0 son mayores (tabla 7).

Tabla 7. Resultados de los factores de selección para el tratamiento CV20 en los diferentes tamaños de vértebras

Tamaño	APE	CV	VL (%)	PA0-0 (%)	S. Bowker
Pequeña	5.291	4.582	100	78	Aleatorio
Mediana	14.953	12.950	100	20	Aleatorio
Grande	11.111	9.623	100	67	Aleatorio

Esta variación en la técnica de visualización de los pares de bandas de *M. henlei* para el Pacífico colombiano y para la región norte de California reafirma la importancia de evaluar diferentes técnicas de visualización, ya que los resultados serán específicos para cada especie y región, en algunos casos también puede variar dependiendo el tamaño de los individuos. No se tiene muy claro qué factores propician estas variaciones intraespecíficas, pero puede deberse a factores ambientales como temperatura y/o productividad o fisiológicos a causa de la alimentación de cada individuo (Goldman, 2005; Pérez-Rojas et al., 2020). Estas variaciones podrían participar en la calcificación de las vértebras y la afinidad que esta posee a los diversos tintes, debido a las diferentes concentraciones de carbonato y/o fosforo que presenta en la estructura y como esto puede interactuar con la naturaleza basófila o acidófila del tinte y por ende también en la visualización de los pares de bandas (Pérez-Rojas et al., 2020).

La alta dispersión que se presenta en la gran mayoría de edades en el gráfico de sesgo por edad se debe a que para la *Mustelus henlei* se presenta una baja resolución en las bandas de crecimiento (Yudin and Cailliet, 1990), provocando así que sus conteos presenten una dispersión mayor. Lo anterior también concuerda con lo reportado por Yudin y Cailliet (1990) y Mendez-Loeza (2008) donde a edades pequeñas (1 y 2 bandas de crecimiento) se presentó un mayor acuerdo entre los lectores, similar a lo reportado para este estudio, donde el conteo de una banda de crecimiento en los tres mejores tratamientos tuvo un sesgo nulo mientras para otras edades se presentó una mayor variación entre los conteos con los diferentes tratamientos.

CONCLUSIONES

El uso de una determinada técnica para mejorar la visualización de las bandas de crecimiento debe ser evaluado en cada especie y región, debido a que la variación en las concentraciones de carbonato y/o fósforo en las vértebras puede reaccionar de manera distinta a las técnicas, es decir, que puede cambiar la afinidad de la estructura con la técnica evaluada para la mejora de la visualización de pares de bandas.

En *Mustelus henlei* se ha definido previamente dos técnicas que permiten la visualización de los pares de bandas (radiografía y tinción con cristal violeta durante 30 minutos) en California central y en el golfo de California, respectivamente; sin embargo, para la especie en el Pacífico colombiano, la mejor técnica para visualizar las bandas de crecimiento en vértebras pequeñas fue la tinción con rojo de alizarina por 5 minutos, en vértebras medianas verde claro por 9 minutos y en vértebras grandes el rojo de alizarina durante 6 minutos.

Además, se recomienda la técnica de tinción debido a los costos más asequibles que presenta en comparación con otras técnicas implementadas para la mejor visualización de las bandas de crecimiento.

Por último, es importante realizar la evaluación de técnicas que mejoren la visualización de las bandas de crecimiento ya que esto proporcionará unos resultados más precisos en los conteos requeridos para estudios de edad y crecimiento. Estos estudios proveerán información esencial para poder tener un correcto manejo de los recursos y la especie, logrando tener estrategias de conservación apropiadas.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a mi mamá y hermana por todo su apoyo incondicional en este proceso y las decisiones tomadas para poder cumplir una parte de mis sueños. A mi familia y pareja por su sostén y ánimo cuando más lo necesitaba. Agradezco también a mis amigos biólogos, July, Joan y Juan Pablo, por brindarme su apoyo, consejos y conocimientos a lo largo de este trayecto. A mi director de trabajo de grado Edgardo Londoño-Cruz por su paciencia y comprensión a lo largo de la carrera. A mi codirector, José Gabriel y a la Fundación

SQUALUS y todos sus miembros por acogerme, enseñarme y apoyarme para poder aprender y comprender más sobre los tiburones y otros grupos. A la Universidad del Valle y todos los profesores que hicieron parte de mi formación académica y personal. Por último, me agradezco a mí por el esfuerzo y empeño en realizar un trabajo de calidad tal como la carrera misma me formó.

BIBLIOGRAFIA

Amariles Agredo, D.F., Navia, A.F. and Giraldo, A. (2014) 'Ecología trófica de *mustelus lunutalus* y *mustelus henlei* en el Pacífico Colombiano.', Universidad del Valle, [Preprint].

Amariles, D.F., Navia, A.F. and Giraldo, A. (2017) 'Food resource partitioning of the *Mustelus lunulatus* and *Mustelus henlei* (Elasmobranchii: Carcharhiniformes)', *Environmental Biology of Fishes*, 100(6), pp. 717–732. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10641-017-0598-x>.

Araya, M. and Cubillos, L. (2002) 'El Analisis Retrospectivo Del Crecimiento En Peces Y Sus Problemas Asociados', *Gayana (Concepción)*, 66(2), pp. 161–179. Available at: <https://doi.org/10.4067/s0717-65382002000200010>.

Beamish, R.J. and Fournier, D.A. (1981) 'A method for comparing the precision of a set of age determinations', *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(8), pp. 982–983. Available at: <https://doi.org/10.1139/f81-132>.

Bernal Gutiérrez, J.E. (2017) EDAD Y CRECIMIENTO DEL TIBURÓN *Mustelus californicus* en el área de Bahía Tortugas, Baja California Sur, Instituto Politecnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Brown, C. and Hoenig, J. (1988) A Simple Technique for Staining Growth Bands in Elasmobranch Vertebrae. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/263248557>.

Bustamante Duarte, C.C. (2007) Análisis histórico del recurso tiburón y bases biológico-pesqueras del tollo vieja (chondrichthyes triakidae) *Mustelus henlei* (Gill, 1863) capturado en la pesca camaronera y artesanal en el puerto de Buenaventura, Pacífico colombiano, Universidad Jorge Tadeo Lozano.

Cailliet, G. (1990) 'A review of several methods for aging elasmobranchs', in NOAA Technical Report NMFS, pp. 157–165.

Cailliet, G.M. et al. (1983) 'Techniques for enhancing vertebral bands in age estimation of California elasmobranchs.', *Proceedings International Workshop on Age Determination of Oceanic Pelagic Fishes: Tunas, Billfishes, Sharks*. NOAA Tech. Rep. NMFS, pp. 157–165.

Cailliet, G.M. et al. (1990) 'Growth Characteristics of Two Populations of *Mustelus manazo* from Japan Based upon Cross-Readings of Vertebral Bands', *Elasmobranchs as*

living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries, 90, pp. 167–176.

Cailliet, G.M. et al. (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(3), pp. 211–228. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10641-006-9105-5>.

Cailliet, G.M. and Goldman, K.J. (2004) 'Age determination and validation in chondrichthyan fishes', in *Biology of Sharks and Their Relatives*, pp. 399–448. Available at: <https://doi.org/10.1201/9780203491317.pt3>.

Cailliet, G.M., Radtke, R.L. and Welden, B.A. (1986) 'Elasmobranch age determination and verification: a review.', in *Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes*, pp. 345–359.

Campana, S.E., Annand, M.C. and McMillan, J.I. (1995) 'Graphical and Statistical Methods for Determining the Consistency of Age Determinations', *Transactions of the American Fisheries Society*, 124(1), pp. 131–138. Available at: [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1995\)124<0131:gasmfd>2.3.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1995)124<0131:gasmfd>2.3.co;2).

Castellanos-Galindo, G.A. et al. (2021) 'Shark conservation and blanket bans in the eastern Pacific Ocean', *Conservation Science and Practice*, 3(7), pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1111/csp2.428>.

Chang, W.Y.B. (1982) 'A Statistical Method for Evaluating the Reproducibility of Age Determination', *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39(8), pp. 1208–1210.

Conrath, C.L., Gelsleichter, J. and Musick, J.A. (2002) Age And Growth Of The Smooth Dogfish (*Mustelus canis*) In The Northwest Atlantic Ocean, *Fishery Bulletin*. Available at: <https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles682>.<https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles/576>.

Escobedo Olvera, M.A. (2006) Determinación de edad y crecimiento en el tiburón Musola Gris (*Mustelus lunulatus* Jordan y gilbert, 1883) en la región norte del golfo de california por medio de anillos vertebrales. Las Agujas.

Farrell, Edward D et al. (1992) Age and growth estimates for the starry smoothhound (*Mustelus asterias*) in the Northeast Atlantic Ocean. Available at: <https://academic.oup.com/icesjms/article/67/5/931/608786>.

Franco-Moreno, A. (2008) ESPECTRO TRÓFICO DEL TOLLO VIEJA *Mustelus henlei* (PISCES: TRIAKIDAE), CAPTURADO CON RED DE ARRASTRE CAMARONERO Y MALLADOR ENTRE LA PARTE NORTE DE BUENAVENTURA Y BOCA SAN JUAN, PACIFICO COLOMBIANO. Bogota D.C.

Frisk, M.G., Miller, T.J. and Dulvy, N.K. (2005) 'Life histories and vulnerability to exploitation of elasmobranchs: Inferences from elasticity, perturbation and phylogenetic

analyses', Journal of Northwest Atlantic Fishery Science, 35, pp. 27–45. Available at: <https://doi.org/10.2960/J.v35.m514>.

Goldman, K.J. (2005) 'Age and Growth of Elasmobranch Fishes.', in Management techniques for elasmobranch fisheries, pp. 76–102.

Gómez, G.O. et al. (2003) 'Hábitos alimentarios de *mustelus lunulatus* y *m. Henlei* (pisces: Triakidae) colectados en el Parque Nacional Natural Gorgona, Pacífico Colombiano', Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras, 32(1), pp. 219–229. Available at: <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2003.32.0.267>.

González Toro, R.M. (2020) Acciones de Conservación de los Condrictios de Profundidad del Caribe Colombiano, Basadas en una Revisión Sistemática, Pontificia Universidad Javeriana.

Hoenig, J.M., Morgan, M.J. and Brown, C.A. (1995) 'Analysing differences between two age determination methods by tests of symmetry', Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 52(2), pp. 364–368.

Mejía-Falla, P.A. and Navia, A.F. (2019) 'Checklist of marine elasmobranchs of Colombia', Universitas Scientiarum, 24(1), pp. 241–276. Available at: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC24-1.come>.

Méndez Loeza, I. (2008) EDAD Y CRECIMIENTO DEL CAZÓN PARDO, *Mustelus henlei* (Gill, 1863), EN LA REGIÓN NORTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, Instituto Politecnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Moncada Rosas, A.M. (2021) Hábitos alimenticios del Tiburón Mamón Pardo (*M. henlei*) en la costa occidental de Baja California Sur, México, Instituto Politecnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Moulton, P.L., Walker, T.I. and Saddler, S.R. (1992) Age and Growth Studies of Gummy Shark, *Mustelus antarcticus* Günther, and School Shark, *Galeorhinus galeus* (Linnaeus), from Southern Australian Waters, Mar. Freshwater Res.

Musick J.A. (2005) 'Shark utilization', in Management techniques for elasmobranch fisheries, pp. 243–251.

Pérez-Rojas, J.G. et al. (2020) 'Evaluation of staining techniques for the observation of growth bands in tropical elasmobranch vertebrae', Scientia Marina, 84(4), pp. 343–354. Available at: <https://doi.org/10.3989/scimar.05045.03A>.

Porter, M.E., Koob, T.J. and Summers, A.P. (2007) 'The contribution of mineral to the material properties of vertebral cartilage from the smooth-hound shark *Mustelus californicus*', Journal of Experimental Biology, 210(19), pp. 3319–3327. Available at: <https://doi.org/10.1242/jeb.006189>.

Puentes, V. et al. (2009) Avances en el conocimiento de tiburones, rayas y quimeras en Colombia.

Puentes-Salazar, A. (2014) Edad y crecimiento de la raya *Urotrygon rogersi* (Jordan & Starks, 1895) (Elasmobranchii: Urotrygonidae) en la costa de Oaxaca, Universidad del Mar.

Ramirez R., J.S., Pérez R., J.G. and Giraldo L., A. (2023) 'EDAD Y CRECIMIENTO DEL TOLLO VIEJA *Mustelus lunulatus* (Chondrichthyes, Triakidae) EN EL PACÍFICO COLOMBIANO A PARTIR DE DOS ENFOQUES MULTI-MODELO', Universidad del Valle [Preprint].

Silva Santos, J.R. (2012) Biología reproductiva del tiburón mamón pardo *Mustelus henlei* (Gill, 1863) en la costa occidental de Baja California Sur, México, Instituto Politecnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Torres-Palacios, K. (2015) Edad y crecimiento de la raya espinosa *Urotrygon aspidura* de la zona Centro-Sur del Pacífico Colombiano, Instituto Politecnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (2023). *Mustelus henlei*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. Available at: <https://www.iucnredlist.org/search?query=mustelus%20henlei&searchType=species> Accessed on: 22-08-2022

IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (2023). *Mustelus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. Available at: <https://www.iucnredlist.org/search?query=mustelus&searchType=species> Accessed on: 22-08-2023

Vazquez-Calderon, A.I., Acosta-Guerrero, F.M. and Anislado-Tolentino, V. (2017) 'ESTIMACIÓN DE LA EDAD Y CRECIMIENTO PARA LA RAYA LÁTIGO *Dasyatis longa* DE LA COSTA DE OAXACA, USANDO VÉRTEBRAS', in XXIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar. Irapuato.

Vélez, N. et al. (2021) 'Mercury concentrations and trophic relations in sharks of the Pacific Ocean of Colombia', Marine Pollution Bulletin, 173. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113109>.

Weigmann, S. (2016) 'Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity', Journal of Fish Biology, 88(3), pp. 837–1037. Available at: <https://doi.org/10.1111/jfb.12874>.

Yamaguchi, A. et al. (1997) AGE AND GROWTH OF THE STARSPOTTED SMOOTH-HOUND, *MUSTELUS MANAZO* (CHONDRICHTHYES: TRIAKIDAE) IN THE WATER SOFNORTH-EASTERN TAIWAN. Paris: Soco Fr. Ichtyol.

Yudin, K.G. and Cailliet, G.M. (1990) 'Age and Growth of the Gray Smoothhound , *Mustelus californicus* , and the Brown Smoothhound , *M . henlei* , Sharks from Central California', Copeia, 1990(1), pp. 191–204.

