



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

EDAD Y CRECIMIENTO DE LA RAYA LÁTIGO *Dasyatis dipterura*
(Jordan y Gilbert, 1880) EN LA BAHÍA DE LA PAZ, BAJA
CALIFORNIA SUR, MÉXICO

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:
ATHZIRI CARMONA SÁNCHEZ

Director de tesis:
Dr. Víctor Hugo Cruz Escalona
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Unidad La Paz

Comité tutor:
Dr. Manuel Uribe Alcocer
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Dr. Heriberto Santana Hernández
Instituto Nacional de Pesca, Unidad Manzanillo
Dr. Oscar Sosa Nishizaki
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada
Dr. Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Febrero, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A el Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN por la formación recibida y el apoyo logístico durante mi estancia.

A CONACyT por la beca para el desarrollo de mis estudios, así como al financiamiento del proyecto SEP-CONACyT CB-2012/180894 dentro del cual se desarrolló esta investigación.

Al Dr. Víctor Hugo Cruz Escalona por la oportunidad de incorporarme a este proyecto y por su apoyo durante el proceso.

A mi comité tutorial conformado por el Dr. Víctor Hugo Cruz Escalona, Dr. Manuel Uribe Alcocer, Dr. Heriberto Santana Hernández, Dr. Oscar Sosa Nishizaki y Dr. Isaías Salgado Ugarte, así como a mis asesores externos la Dra. Paola Andrea Mejía Falla y el M. en C. Jonathan Franco López por sus valiosos comentarios y aporte durante el desarrollo de la tesis.

Al M. en C. Felipe Neri Melo por sus acertadas recomendaciones, por la amabilidad y buena disposición para ayudarme.

A Paola y Andrés por los consejos, la dedicación, la paciencia y la amistad que siempre me brindaron.

A mis compañeros y amigos de Laboratorio (Karen, Pablin, Caro, Ely, Kathe, Itzi, Pedro, Nico, Lorem, Vale, Xchel) por el apoyo y todos los momentos compartidos.

A Don Juan y Doña Tere por el apoyo y enseñanzas en campo.

A los amigos y compañeros en CICIMAR Sury, Lavis, Jonathan, Luis, Jorge y Francisco por la convivencia dentro y fuera del centro.

A mis padres y hermana por su amor incondicional y apoyarme en todo lo que emprendo y siempre estar ahí echándome porras.

A Gabriel por compartir cada uno de mis sueños y proyectos con paciencia, confianza y amor.

RESUMEN

La edad y el crecimiento son atributos poblacionales útiles en la elaboración de modelos pesqueros. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue estimar la edad y los parámetros de crecimiento de *Dasyatis dipterura* en Bahía de La Paz, BCS. En total se utilizaron 316 vértebras de organismos capturados durante el periodo octubre de 2013 a septiembre 2015. El intervalo de tallas para las hembras fue de 30.8 y 76.5 cm de ancho de disco (*AD*), el de los machos de 32.6 a 57 cm de *AD*. La relación entre el diámetro de la vértebra y la talla (*AD*) fue de tipo lineal. Se probaron diferentes tratamientos (grosor de corte y tipo de tinción) para mejorar la visualización de las marcas de crecimiento. Cortes de vértebras grandes y pequeñas (0.4 mm) teñidas con marrón de Bismarck a 7 y 3 minutos, resultaron los más adecuados, mientras que las vértebras medianas no necesitaron de ningún tipo de tinción. Los análisis de incremento marginal y tipo de borde no evidenciaron una periodicidad clara en la formación de las bandas. La edad máxima para las hembras fue estimada en 15 años, la de los machos en 7 años. Se ajustaron ocho funciones de crecimiento a los datos de talla-edad para cada sexo. Ninguno de los modelos utilizados mostró suficiente significancia estadística (AIC mayor a 90 por ciento), por lo cual se aplicó la inferencia multimodelo, mostrando que los modelos con tres parámetros (von Bertalanffy, Gompertz y Logístico) describieron mejor el crecimiento de hembras, con un valor ponderado de $AD_{inf}= 76.23$ cm, $k= 0.11$ a 0.22 cm/año, $AD_0= 37$ cm, mientras que para los machos los modelos de von Bertalanffy, Gompertz, ambos de tres parámetros y Logístico de dos y tres parámetros $AD_{inf}= 59.34$ cm, $k= 0.12$ a 0.27 cm/año, $AD_0= 37.2$ cm tuvieron un mejor ajuste. El patrón de crecimiento de *D. dipterura* es similar al de la mayoría de los elasmobranchios, esto es, tasas de crecimiento bajas y edades relativamente longevas, especialmente en las hembras.

CONTENIDO

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
3. Justificación.....	8
4. Objetivos.....	9
4.1. Objetivo General	9
4.2. Objetivos específicos.....	9
5. Hipótesis.....	9
6. Materiales y métodos.....	10
6.1. Área de estudio y recolecta de muestras.....	10
6.2. Trabajo de laboratorio	11
6.2.1. Limpieza, separación y preparación de las vértebras.....	11
6.2.2. Relación del diámetro de la vértebra con la talla del individuo	11
6.3. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento	12
6.3.1. Definición del grosor del corte.....	12
6.3.2. Pruebas de tinte y tiempo de tinción	13
6.3.3. Tamaño de muestra final	14
6.3.4. Conteo final de bandas de crecimiento	15
6.4. Análisis cualitativos y de precisión y sesgo entre lectores	16
6.4.1. Porcentaje de vértebras leídas y nivel de visualización.....	16
6.4.2. Porcentaje de acuerdo entre lectores (<i>PA</i>).....	17
6.4.3. Porcentaje de error promedio (<i>PEP</i>)	17
6.4.4. Coeficiente de variación (<i>CV</i>).....	17
6.4.5. Prueba de simetría de Bowker (Hoening <i>et al.</i> , 1995)	18
6.4.6. Análisis de sesgo por edad	18
6.5. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento.....	18
6.5.1. Análisis de borde (<i>AB</i>)	18
6.5.2. Análisis del incremento marginal (<i>IM</i>)	19
6.6. Modelos de crecimiento.....	19
7. Resultados.....	25
7.1 Composición de captura.....	25
7.2. Distribución de frecuencias de tallas	26
7.3. Relación del diámetro de la vértebra con la talla del individuo.....	27

7.4. Distribución de frecuencias del diámetro de la vértebra.....	28
7.5. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento	28
7.5.1. Definición del grosor de corte.....	28
7.5.2. Pruebas de tintes y tiempo de tinción.....	29
7.5.3. Análisis cualitativos de precisión y de sesgo para la lectura final	33
7.6. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento.....	34
7.7. Modelos de crecimiento.....	36
8. Discusión.....	40
8.1. Composición de captura.....	40
8.2. Relación del diámetro de la vértebras con la talla del individuo	41
8.3. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento	41
8.3.1. Definición del grosor de corte.....	41
8.3.2. Tinciones	42
8.4. Análisis de precisión y sesgo.....	43
8.5. Conteos finales de bandas de crecimiento	44
8.6. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento.....	44
8.7. Modelos de crecimiento.....	¡Error! Marcador no definido.
9. Conclusiones.....	48
10. Litertura citada.....	49
Apéndice.....	61

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagen satelital de la Bahía de la Paz, Baja California Sur, México. El marcador rojo denota la ubicación del campo pesquero el Morrito, ubicado en las inmediaciones de la Isla Espíritu santo.....**10**
- Figura 2.** Cortes sagitales (0.4 mm) de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*. a) Corte con exceso de pegamento. b) Corte limpio de excesos de pegamento. b) Corte limpio de excesos de pegamento.....**12**
- Figura 3.** Fotografía de un corte sagital (0.4 mm) de una vértebra sin tinción de *Dasyatis dipterura* (1.5X, luz transmitida). En la fotografía se muestran las siguientes medidas: R = radio de la vértebra, R_n = distancia del foco a la última banda, R_{n-1} = distancia del foco a la penúltima banda, MN = es la marca de nacimiento y z : distancia del foco a cada banda de crecimiento**16**
- Figura 4.** Muestra mensual de ejemplares de *Dasyatis dipterura* durante el periodo octubre 2013-septiembre 2015, en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.....**25**
- Figura 5.** Número de machos y hembras de *Dasyatis dipterura* capturados durante el periodo 2013-2015 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México (NI= sexo no identificado).....**26**
- Figura 6.** Distribución de frecuencias de tallas de *Dasyatis dipterura* (sexos separados) recolectados durante el periodo octubre 2013-septiembre 2015 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México**27**
- Figura 7.** Corte de vértebra de *Dasyatis dipterura* a 0.4 mm con luz transmitida (20 X).....**28**
- Figura 8.** Gráficos de sesgo por edad para los tratamientos control (sin tinción) y agua, aplicados a los cortes sagitales de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*.....**31**
- Figura 9.** Gráficos de sesgo por edad para los tratamientos aplicados a los cortes sagitales de los tres tamaños de vértebra de *Dasyatis dipterura*. a) rojo de alizarina 3, 5, 7 minutos. b) azul de metileno 3, 5, 7 minutos. c) marrón de Bismarck 1, 3, 5, 7, 10 minutos. d) cristal violeta 5, 7, 10, 15, 20 minutos).....**32**
- Figura 10.** Fotografía de una vértebra de *Dasyatis dipterura* cortada a un grosor de 0.4 mm. a) Vértebra grande teñida con marrón de Bismarck a siete minutos (0.7X, luz transmitida). b) Vértebra mediana sin tinción (1.5X, luz transmitida). c) Vértebra pequeña teñida con marrón de Bismarck a tres minutos (1.5X, con luz transmitida).....**33**
- Figura 11.** Gráfico de sesgo por edad de las lecturas finales de bandas de crecimiento en las vértebras de *Dasyatis dipterura*.....**34**
- Figura 12.** Variación del índice de Incremento Marginal de las vértebras de *Dasyatis dipterura* en los meses de muestreo.....**35**
- Figura 13.** Variación del tipo de borde en las vértebras de *Dasyatis dipterura* durante los meses del periodo 2013-2015 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México**36**

Figura 14. Curvas de crecimiento de von Bertalanffy (tres parámetros), Gompertz (tres parámetros) y Logístico (tres parámetros) ajustadas a datos de talla- edad para hembras de *Dasyatis dipterura* en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.....**38**

Figura 15. Curvas de crecimiento de von Bertalanffy (tres parámetros), Gompertz (tres parámetros), Logístico (dos y tres parámetros) ajustadas a datos de talla- edad para machos de *Dasyatis dipterura* en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.....**39**

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Modelos de crecimiento y parámetros de edad y crecimiento para algunas especies de la familia Dasyatidae. * Indicada por el autor como *D. brevis*. ** Indicada por el autor como *D. longus*. H= hembras; M= machos; L_{∞} = longitud asintótica teórica; AD_{∞} = ancho de disco asintótico teórico; k = coeficiente de crecimiento anual y parámetro relativo de la tasa de crecimiento (en modelo Logístico); t_0 = edad teórica a la talla cero.....7
- Tabla 2.** Tiempos de exposición de los diferentes colorantes aplicados para la tinción diferencial de las marcas de crecimiento en cortes sagitales de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*14
- Tabla 3.** Modelos de crecimiento individual ajustados a los datos de talla-edad para individuos de *Dasyatis dipterura* en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. AD_t = ancho del disco a la edad t ; AD_{∞} = talla asintótica teórica; k = coeficiente de crecimiento anual, tasa instantánea de crecimiento a la edad t_0 (en Gompertz) y parámetro relativo de la tasa de crecimiento (en Logístico); AD_0 = talla de nacimiento; t_0 = edad teórica a la talla cero; t = edad observada. En el caso de los modelos bifásicos se agregan dos parámetros complementarios, h = representa la diferencia máxima entre el modelo convencional de von Bertalanffy y el modelo bifásico en el punto th ; y th = punto de inflexión21
- Tabla 4.** Parámetros de tres modelos de regresión y sus valores del criterio de información de Akaike (AIC) para datos del diámetro de la vértebra (R) y ancho del disco (AD) de *Dasyatis dipterura*27
- Tabla 5.** Valores de los análisis cualitativos (% vértebras leídas, nivel de visibilidad), de precisión (porcentaje de acuerdo entre lectores-PA, porcentaje de error promedio-PEP y coeficiente de variación-CV) y de sesgo (prueba de simetría de Bowker- p) para los tratamientos aplicados a las vértebras grandes, medianas y pequeñas de *Dasyatis dipterura*.....30
- Tabla 6.** Parámetros de los modelos de crecimiento ajustados a los datos de talla (AD) y edad para hembras y machos de *Dasyatis dipterura* capturadas en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. VBGM-2, VBGM-3 son variantes del modelo de von Bertalanffy, GGM-2 y GGM-3 son variantes del modelo de Gompertz; LGM-2 LGM-2, TPGM-4 y TPGM-5 son variantes del modelo Logístico. AD_{∞} = es el ancho de disco infinito, k = coeficiente de crecimiento, AD_0 = ancho del disco al nacer; criterios de ajuste y selección de los modelos de crecimiento, MSE= cuadrado medio del error, RSS= suma de cuadrados de los residuales; criterio de Akaike (AIC), Δ_i = delta de i y w = peso de Akaike.....37

1. Introducción

Los elasmobranquios se caracterizan generalmente por presentar tasas de crecimiento lento, reproducción tardía, baja fecundidad y periodos de gestación largos. Estas características los hacen vulnerables a presiones pesqueras en comparación a los peces teleósteos (Holden, 1974; Cailliet, 1990; Hoening & Gruber, 1990; Walker, 1998; Stevens *et al.*, 2000; Cailliet & Goldman, 2004). Sin embargo, otros estudios han demostrado que no todos los elasmobranquios responden en igual medida a la explotación (Simpfendorfer, 1999; Ladino, 2014; Mejía-Falla *et al.*, 2014), e incluso esta respuesta puede variar entre poblaciones (Casey & Myers, 1998; Stevens, 1999).

Para evaluar el impacto que tienen las pesquerías sobre una población, se han desarrollado estudios que incluyen rasgos de sus historia de vida, como aquellos relacionados a la edad y crecimiento, a partir de estos rasgos es posible estimar la mortalidad natural y la longevidad de una especie o población (Holden & Raitt, 1975).

La estimación de la edad se basa en la formación de bandas opacas y traslúcidas y se pueden observar en estructuras calcificadas (Cailliet & Goldman, 2004), tales como las vértebras, que son las estructuras más utilizadas, en las cuales se ha documentado bandas concéntricas de crecimiento, usadas inicialmente con propósitos paleontológicos y taxonómicos (Ridewood, 1921). Y en menor medida, se han utilizado las espinas de la aleta dorsal de tiburones, los arcos neurales (Cailliet, 1990) y los dentículos dérmicos (Goldman *et al.*, 2012).

La formación de dichas bandas está dada por la densidad de sales de calcio y fosforo acumuladas en la estructura (Cailliet *et al.*, 1983), la cual se ha relacionado con cambios ambientales y fisiológicos (Natanson *et al.*, 1993). El efecto en los patrones de acumulación de las sales de carbonato de calcio depende según la especie y la posición geográfica las poblaciones (Goldman *et al.*, 2004). En zonas templadas los cambios estacionales son muy marcados y se reconoce una banda opaca relacionada con el verano y una traslúcida con la temporada de invierno. En contraste, dada la ausencia de estacionalidad en zonas tropicales, los estudios se

hacen más complicados, al no existir cambios significativos en temperatura, abundancia de alimento, entre otros, que se reflejen en la formación de las bandas opacas y translúcidas (Cailliet & Goldman, 2004).

En México la captura de diversas especies de batoideos ha ido en aumento en la última década, como es el caso del Golfo de California, donde las familias más frecuentemente capturadas, a partir de pesca dirigida, son Myliobatidae, Dasyatidae y Rajidae (CONAPESCA-INP, 2004). No obstante, se considera que la mayor mortalidad de rayas es debido a la captura incidental producto de pesquerías artesanales enfocadas a recursos como sierra, cangrejo azul y camarón (Flores *et al.*, 1995; Márquez-Farías, 2002; Sulikowski *et al.*, 2005, Santana-Hernández *et al.*, 2011).

La familia Dasyatidae está conformada por ocho especies (Nelson, 2006) una de ellas es la raya látigo, *Dasyatis dipterura*, la cual habita en zonas costeras del Pacífico desde el sur de California, EEUU a Chile, incluyendo el Golfo de California, las Islas Galápagos, la isla Malpelo y las islas de Hawái (Eschmeyer *et al.*, 1983; Nishida & Nakaya, 1990; Lamilla *et al.*, 1995; Gómez y Mojica, 2001). *Dasyatis dipterura* es una especie de hábitos demersales, generalmente asociada a fondos blandos (limo-arenosos) o cerca de afloramientos rocosos y mantos de algas marinas a profundidades que van desde los 3 a los 30 metros (Feder *et al.*, 1974; Eschmeyer *et al.*, 1983). Se reporta una talla de nacimiento de 18 a 28 cm de ancho de disco (*AD*), y una longitud máxima de 100 cm *AD*. La talla de primera madurez para hembras se ha estimado de 57 cm *AD* y para machos de 47 cm *AD*, con una fecundidad de 1 a 4 embriones (Smith *et al.*, 2006, 2007).

Dasyatis dipterura es una de las especies comúnmente capturadas en la pesca comercial de arrastre de camarón, ocupando la segunda posición en los volúmenes de captura (Flores *et al.*, 1995). En la costa del Pacífico de México y el Golfo de California representa un componente principal de las capturas de la pesca artesanal de elasmobranquios (Bizzarro *et al.*, 2000; Márquez-Farías, 2002; Smith, 2004; Bizzarro, 2005), no obstante, esta especie se considera dentro del “Permiso para pesca comercial de escama en general” que se encuentra en el estatus de “Pesquería aprovechada al máximo sustentable” (DOF, 2010), esta es la única

medida de manejo establecida, con la siguiente cláusula, “en caso de que la producción global de batoideos de la región noroeste de México disminuya de 3,800 t, el Instituto Nacional de Pesca determinará las acciones correctivas” (Márquez-Farías & Blanco-Parra, 2006). Además, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) incluye a *D. dipterura* bajo la categoría de “Datos Deficientes”.

Con base en lo anterior, se establece la necesidad de aportar información sobre aspectos de su historia de vida, tales como la edad y el crecimiento, insumos necesarios para elaborar modelos demográficos que permitan explorar la respuesta de las poblaciones a diferentes escenarios de explotación, y por consiguiente, contribuir en la implementación de medidas de manejo para su uso sostenible.

2. Antecedentes

Para el estudio de edad y crecimiento en peces se han utilizado diversas estructuras esqueléticas, entre ellas, escamas, otolitos, denticulos dérmicos, vértebras entre otros, en las cuales se observa la formación de anillos o bandas de crecimiento (Goldman, 2005). Particularmente en peces cartilagosos, Cailliet & Goldman (2004) propusieron que algunas de esas estructuras como vértebras, espinas dorsales y la espina caudal podrían ser utilizadas para la estimación de la edad y crecimiento individual de los organismos.

En el caso de los batoideos, se han desarrollado estudios sobre este tema que han confirmado la utilidad de marcas de crecimiento en centros vertebrales para la estimación de la edad en las familias Myliobatidae (Smith & Merriener, 1987; Martin & Cailliet, 1988; Neer & Thomson, 2005; Pabón-Aldana, 2016), Rajidae (Sulikowski *et al.*, 2009; Ainsley *et al.*, 2011; Kadri *et al.*, 2013), Narcinidae (Villavicencio, 2000; Pérez-Rojas, 2013), Torpedinidae (Neer & Cailliet, 2001), Gymnuridae (Henningsen, 1996), Rhinobatidae (Timmons & Bray, 1997), Urolophidae (White *et al.*, 2001), Urotrygonidae (Hale & Lowe, 2008; Mejía-Falla *et al.*, 2014; Guzmán-Castellanos, 2015; Torres-Palacios, 2015) y Dasyatidae (Villavicencio-Garayzar *et al.*, 1994; Cowley, 1997; Ismen, 2003; Smith *et al.*, 2007, 2008; Yeldan *et al.*, 2009; Galdámez-Olmedo, 2014), entre otros. Sin embargo, existen evidencias que señalan que la

facilidad para observar las bandas de crecimiento en vértebras de elasmobranquios varía en cada especie, así como con la técnica empleada para su observación (Cailliet & Goldman, 2004), por lo que resulta importante generar estudios detallados por especie (Frisk *et al.*, 2001).

Particularmente en especies de la familia Dasyatidae se han realizado pocos estudios que evalúen las variables (p. e. grosor de corte y tintes y tiempo de tinción) que permitan una mejor visualización de las marcas de crecimiento en centros vertebrales. Entre ellos se encuentra el realizado por Ismen (2003), quien reporta que cortes teñidos con cristal violeta mejoran significativamente la visualización de las marcas de crecimiento en *D. pastinaca*, mientras Yeldan *et al.* (2009) utilizaron nitrato de plata para mejorar la nitidez de las marcas; por otro lado Girgin *et al.* (2016) reportan que cortes sagitales teñidos con safranina O (también conocido como dimetil safranina y rojo básico 2) son los más recomendables para visualizar las bandas de crecimiento en la misma especie. Recientemente, Galdámez-Olmedo (2014) realizó cortes sagitales de 0.7 mm, en los que probó algunos tintes, tales como, cristal violeta, nitrato de plata, cloruro de cobalto y azul de metileno, además de la técnica de quemado, eligiendo este último como el adecuado para la visualización de las marcas de crecimiento de *D. diptera* (indicada como *D. brevis*).

Así como se han evaluado algunas técnicas que facilitan la visualización de las bandas, con el fin de encontrar mayor confiabilidad en la estimación de la edad, también se ha evaluado la precisión y el sesgo entre los lectores a través de métodos estadísticos con la finalidad de contar con mayor confianza en la estimación de las lecturas (Campana, 2001). En el caso de los batoideos, los análisis de precisión más usados son el Porcentaje de Acuerdo, Coeficiente de Variación, Porcentaje de Error Promedio (Cailliet & Goldman, 2004; Natanshon *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2007; Hale & Lowe, 2008; Mejía-Falla *et al.*, 2014; Torres-Palacios, 2015; Girgin *et al.*, 2016), y de sesgo son el gráfico de Sesgo por Edad (Campana *et al.*, 1995) y la Prueba de Simetría (Hoenig *et al.*, 1995).

Por otro lado, también se han utilizado diversos modelos para describir el crecimiento individual, aunque la mayoría de los estudios en elasmobranquios han

empleado la función de crecimiento de von Bertalanffy para describir dicho proceso biológico (Cailliet *et al.*, 2006). Sin embargo, el uso de un enfoque multimodelo ha demostrado que modelos alternos pueden tener un mejor ajuste a los datos (Goldman *et al.*, 2012; Guzmán-Castellanos *et al.*, 2014).

Específicamente para la familia Dasyatidae se han realizado pocos estudios de edad y crecimiento, Cowley (1997) reporta para *D. chrysonotus chrysonota* una tasa de crecimiento de 6 cm por año estimada a partir del modelo de crecimiento de von Bertalanffy, dicha tasa es similar a la reportada para organismos en cautiverio (Tabla 1). A su vez Ismen (2003) y Yeldan *et al.* (2009) reportan para *D. pastinaca* en aguas del Mediterráneo, que el modelo de von Bertalanffy es el que mejor se ajusta a los datos de edad-longitud y edad-peso para realizar la estimación de la edad, mostrando que la especie se caracteriza por presentar tasas de crecimiento bajas, mientras Girgin *et al.* (2016) en aguas del Mediterráneo, reportan que el modelo de von Bertalanffy presentó un mejor ajuste a los datos de *AD* para sexos combinados y por sexos separados para la misma especie, concluyen que las hembras alcanzan tallas asintóticas y tasas de crecimiento mayores que los machos (Tabla 1).

A diferencia de los anteriores estudios, Dale & Holland (2012) utilizaron varios modelos para describir el crecimiento de *D. lata* en aguas costeras de Hawái, reportan que el modelo Logístico es el más adecuado para los datos de edad-talla y edad-peso y reportan que el modelo de von Bertalanffy carece de soporte estadístico para describir el crecimiento en esta especie. Las estimaciones de edad para *D. lata* en las hembras variaron entre 0 y 28 años, mientras que para los machos entre 0 y 25 años, además destacan que las hembras alcanzan las tallas más grandes, con tasas de crecimiento relativamente bajas (Tabla 1).

Galdámez-Olmedo (2014) estimó la edad y crecimiento con el modelo de von Bertalanffy para las especies *D. dipterura* y *D. longa* en el Salvador, reportando que las hembras alcanzan tallas asintóticas más grandes que los machos (Tabla 1). Por otra parte Smith *et al.* (2007) reportaron para *D. dipterura* en el Complejo lagunar de Bahía Magdalena en Baja California Sur, México, una talla máxima para las hembras de 100 cm *AD* con una longevidad de 28 años, y para los machos de 60

cm *AD* con una edad de 19 años, alcanzando la madurez a los 10 años y en el caso de las hembras a los 7 años.

Tabla 1. Modelos de crecimiento y parámetros de edad y crecimiento para algunas especies de la familia Dasyatidae. * Indicada por el autor como *D. brevis*. ** Indicada por el autor como *D. longus*. H= hembras; M= machos; L_{∞} = longitud asintótica teórica; AD_{∞} = ancho de disco asintótico teórico; k = coeficiente de crecimiento anual y parámetro relativo de la tasa de crecimiento (en modelo Logístico); t_0 = edad teórica a la talla cero.

Especie	Localidad	Modelo	Sexo	Parámetros				Referencia
				L_{∞}	AD_{∞}	k	t_0	
<i>Dasyatis chrysonotus chrysonota</i>	Costa del Cabo Sur-Oriental de Sudáfrica	von Bertalanffy	H	913 mm		0.07		Cowley (1997)
			M	532 mm		0.17		
<i>Dasyatis pastinaca</i>	Bahía Iskenderun, Mediterráneo oriental	von Bertalanffy	ambos	121.5		0.089	-1.615	Ismen (2003)
<i>Dasyatis pastinaca</i>	Noreste del Mediterráneo	von Bertalanffy	ambos	294.9		0.029	-2.2	Yeldan <i>et al.</i> (2009)
<i>Dasyatis lata</i>	Oahu, Hawái	Logístico	H		114	0.12	7.61	Dale & Holland (2012)
			M		116	0.14	4.52	
<i>Dasyatis brevis</i>	Puerto de Acajutla, El Salvador	von Bertalanffy	H	111.1		0.082	-0.73	Galdámez-Olmedo (2014)
			M	86.67		0.084	-0.59	
<i>Dasyatis longus</i>	Puerto de Acajutla, El Salvador	von Bertalanffy	H	127.781		0.086	-0.79	Galdámez-Olmedo (2014)
			M	00		0.091	-0.61	
<i>Dasyatis pastinaca</i>	Bahía Iskenderun, noreste del Mediterráneo	von Bertalanffy	H		127.06	0.058	-1.508	Girgin <i>et al.</i> (2016)
			M		114.54	0.041	-3.632	
			ambos		104.54	0.075	-1.43	

3. Justificación

El crecimiento individual es uno de los atributos biológicos más importantes que se deben conocer de una población (Mercier *et al.*, 2011, Cruz-Vázquez *et al.*, 2012), a partir del cual es posible estimar tasas de crecimiento, mortalidad, edad de madurez y longevidad (Campana, 2001). *Dasyatis dipterura* es una de las especies de batoideos frecuentemente capturadas en la pesca artesanal de elasmobranquios en costas del Pacífico de México y el Golfo de California (Bizzarro *et al.*, 2000; Márquez-Farías, 2002; Smith, 2004; Bizzarro, 2005). Particularmente en La Bahía de La Paz es una especie explotada comercialmente, sin embargo, no hay estudios relativos a sus rasgos de historia de vida, entre ellos la edad y el crecimiento, y a pesar que se han realizado algunos estudios que describen características sobre algunos aspectos biológicos, la información es limitada, circunstancias por las cuales la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) la reportan en sus listas bajo la categoría de especie con “Datos Deficientes”. Por lo anterior resulta necesario generar más información que permita conocer aspectos relacionados con su dinámica poblacional y por tanto evaluar su capacidad para resistir diferentes presiones, entre ellas la pesca, lo cual es fundamental para generar medidas de manejo adecuadas para cualquier especie.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

- Estimar la estructura por edades, edad máxima y los parámetros de crecimiento de *Dasyatis dipterura* a partir de las marcas de crecimiento en centros vertebrales, en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

4.2. Objetivos específicos

- Comprobar si los centros vertebrales de *Dasyatis dipterura* son una estructura adecuada para estimar su edad.
- Definir la técnica más eficiente para la observación de bandas de crecimiento en vértebras de *Dasyatis dipterura*.
- Describir la estructura por edades para hembras y machos de *Dasyatis dipterura*.
- Estimar los parámetros de crecimiento de hembras y machos de *Dasyatis dipterura* a partir de un enfoque multimodelo.

5. Hipótesis

En la mayoría de los elasmobranquios se ha reportado que las hembras presentan tallas mucho más grandes que los machos, lo que usualmente está asociado a procesos biológicos como la reproducción. Por este motivo, se espera que sean las hembras de *D. dipterura* las que alcancen edades máximas y tallas asintóticas.

6. Material y métodos

6.1. Área de estudio y recolecta de muestras

La recolecta de muestras se realizó mensualmente a partir de octubre del 2013 hasta septiembre del 2015, exceptuando el mes de septiembre del 2014 debido al paso del Huracán Odile en el Pacífico mexicano. Los organismos se obtuvieron como parte de la captura comercial desembarcada en el campo pesquero El Morrito, ubicado en la Isla Espíritu Santo, dentro de la Bahía de La Paz, Baja California Sur (Fig. 1). Los puntos de muestreo se localizan entre los paralelos $24^{\circ} 24'$ y $24^{\circ} 36'$ N y los meridianos $110^{\circ} 18'$ y $110^{\circ} 27'$ W.

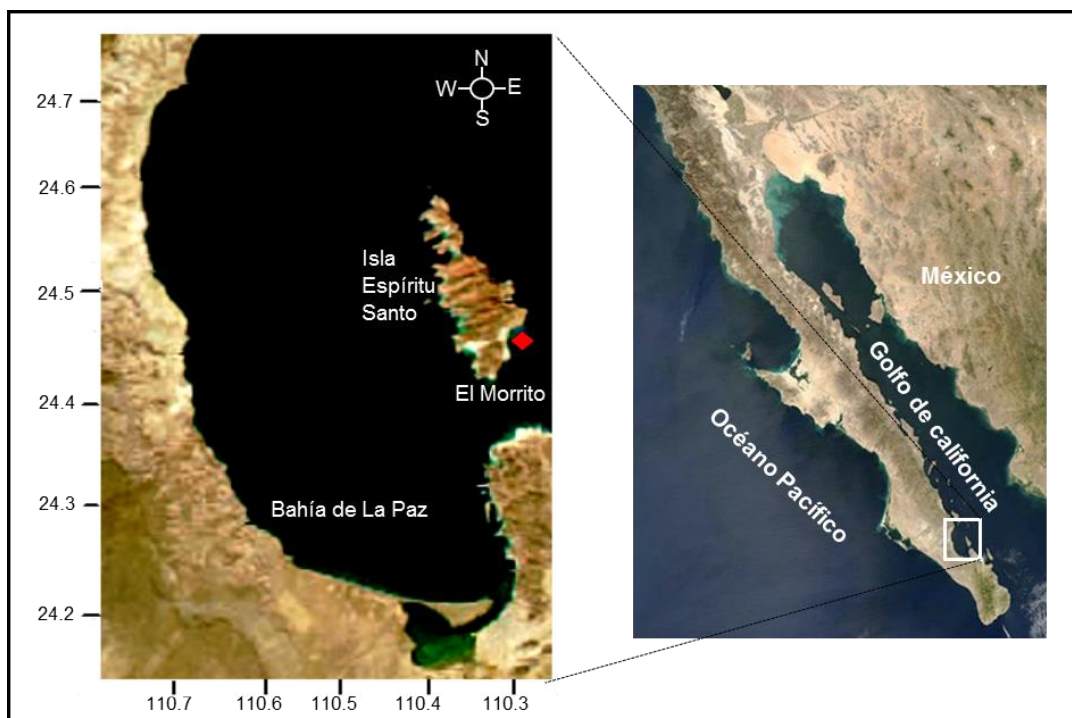


Figura 1. Imagen satelital de la Bahía de la Paz, Baja California Sur, México. El marcador rojo denota la ubicación del campo pesquero el Morrito, ubicado en las inmediaciones de la Isla Espíritu Santo.

Las capturas de los especímenes se realizaron abordo de una embarcación menor (panga) con motor fuera de borda (60 HP), utilizando una red de enmalle de 8 y 10 pulgadas de luz de malla, compuesta de dos a tres lienzos, cada uno de ellos de 100 m de longitud y 1.5 m de alto. Las redes fueron tendidas durante el atardecer (18:00 h) y levantadas a la mañana siguiente (08:00 h).

A los especímenes capturados se les identificó el sexo por la presencia de gonopterigios en machos y la ausencia de los mismos en hembras, además fueron registradas las siguientes medidas biométricas: longitud total (LT , en cm), longitud del disco (LD , en cm) y ancho de disco (AD , en cm). Posteriormente a cada ejemplar se le practicó un corte en la región abdominal, con la finalidad de extraer una porción de la parte media de la columna vertebral, las cuales fueron conservadas en bolsas individuales, rotuladas con datos específicos de cada ejemplar (nombre de la especie, lugar y fecha de recolecta, número de espécimen, datos biométricos), y preservadas en hielo hasta su traslado al Laboratorio de Docencia 2 del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN, donde fueron procesadas.

6.2. Trabajo de laboratorio

6.2.1. Limpieza separación y preparación de las vértebras

Cada porción de la columna vertebral fue limpiada manualmente utilizando un cuchillo, pinzas de disección y bisturí para quitar el exceso de músculo y tejido conectivo. Posteriormente se procedió a medir el diámetro de 5 a 10 vértebras (las más grandes) de cada individuo con un calibrador digital, con la finalidad de agruparlas en tres diferentes intervalos (pequeñas, medianas y grandes). Una vez limpias y agrupadas fueron almacenadas en bolsas plásticas previamente rotuladas.

6.2.2. Relación del diámetro de la vértebra con la talla del individuo

Para establecer si hay una relación entre el tamaño (diámetro, R) de la vértebra y la talla del individuo (ancho del disco, AD), se ajustaron varios modelos, a saber, lineal, cuadrático e isométrico, el mejor ajuste se eligió tomando en cuenta el criterio de información de Akaike, el cual establece que valores más pequeños significan un mejor ajuste de los datos.

6.3. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento

6.3.1. Definición del grosor del corte

Una vez separadas las vértebras por clase de tamaño, cada una de ellas fue adherida a una superficie de madera con un pegamento a base de cianocrilato para después ser seccionada de manera sagital, utilizando una cortadora de baja velocidad (CIEN TEC, PICO155) con dos cuchillas con filo de diamante.

Se cortaron 25 vértebras pequeñas, 30 vértebras medianas y 25 vértebras grandes a diferentes grosores: 0.3 mm, 0.4 mm y 0.5 mm de espesor, obteniendo estructuras en forma de corbatas (Fig. 2; Cailliet & Goldman, 2004). Los cortes obtenidos fueron limpiados para quitar el exceso de pegamento con ayuda de un bisturí y un estereoscopio (Zeiss, Stemi 305). Cuidadosamente se limpiaron los bordes del corbatín para no dañarlos y no romper el foco, esto ayuda a que el proceso de las lecturas de las bandas de crecimiento sea más confiable eliminando restos que no permitan ver claramente las bandas.

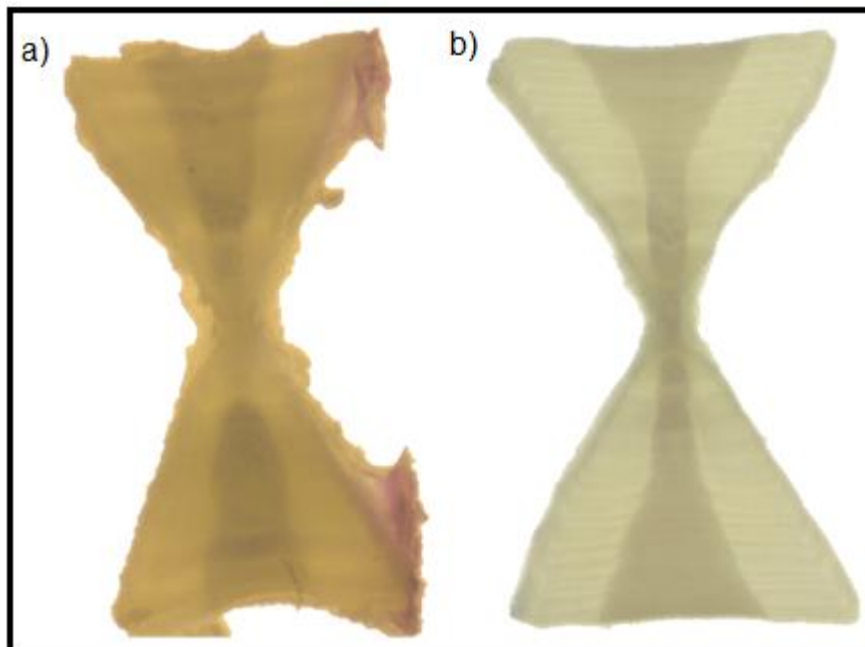


Figura 2. Cortes sagitales (0.4 mm) de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*. a) Corte con exceso de pegamento. b) Corte limpio de excesos de pegamento.

Una vez limpios los cortes estos fueron observados bajo un estereoscopio (Zeiss, Stemi 305) con luz transmitida y se fotografiaron con una cámara digital (Zeiss, AxionCam Erc5s). Cada fotografía fue analizada posteriormente por dos observadores de manera conjunta con la finalidad de evaluar cualitativamente la claridad y nitidez de las bandas de crecimiento.

6.3.2. Pruebas de tinte y tiempo de tinción

Posterior a la definición del grosor del corte y limpieza de corbatines, se seleccionó al azar una sub-muestra (n= 6), a la cual se le realizó las pruebas de tinción, evaluando seis tintes, cuatro de ellos afines al agua: rojo de alizarina (0.05%), azul de metileno (0.001%), cristal violeta (0.001%), verde claro (0.05%), y dos afines al alcohol: fucsina básica (0.05%) y marrón de Bismark (0.05%). De último momento se incluyó el nitrato de plata entre los tratamientos. En total se utilizaron 36 cortes sagitales para cada una de los tres grupos de tamaño. Previo a la tinción, se tomaron fotografías a los 108 cortes, los cuales fueron tomados como muestra control (sin tinción). Después 72 de ellos fueron fotografiados agregando una gota de agua destilada y a otros 54 una gota de alcohol.

Las pruebas de tinción se realizaron a diferentes tiempos de exposición: 1', 3', 5', 7', 10', 13', 15', 20', 25', 30' (tiempo de saturación), y en algunos casos como en el rojo de alizarina y cristal violeta a 35', 40' y 50' (tiempo de saturación). Durante este proceso se tomaron fotografías de cada muestra (tratamiento) evaluando cualitativamente la visualización de las bandas en cada uno de ellos. Los resultados de cada tiempo de exposición se compararon y se eligieron los tintes y tiempos que presentaron mejores resultados para cada tamaño de vértebra (Tabla 2). Los tintes y tiempos con mejores resultados se aplicaron a una nueva sub-muestra de 15 individuos por tamaño.

Tabla 2.- Tiempos de exposición de los diferentes colorantes aplicados para la tinción diferencial de las marcas de crecimiento en cortes sagitales de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*.

TINTES	PEQUEÑAS	MEDIANAS	GRANDES
Rojo de alizarina	3', 5', 7'	3', 5', 7'	3', 5', 7'
Azul de metileno	3', 5', 7'	3', 5', 7'	3', 5', 7'
Cristal violeta	5', 7', 10'	10', 15', 20'	5', 7', 10'
Verde claro	Descartado	Descartado	Descartado
Fucsina básica	Descartado	Descartado	Descartado
Marrón de Bismark	1', 3', 5'	Descartado	5', 7', 10'
Nitrato de Plata	30 s (AgNO ₃)- 30 s (UV)	30 s (AgNO ₃)- 30 s (UV)	30 s (AgNO ₃)- 30 s (UV)
Alcohol	Descartado	Descartado	Descartado
Agua	1 gota	1 gota	1 gota

A partir de las fotografías de la sub-muestra, se realizaron las lecturas de bandas por dos lectores de manera independiente. Una vez contabilizadas las marcas de crecimiento se realizaron observaciones cualitativas (porcentaje vértebras leídas, nivel de visualización) y cuantitativas para evaluar la consistencia de las lecturas entre lectores, tales como el porcentaje de acuerdo (*PA*), el porcentaje de error promedio (*PEP*), el coeficiente de variación (*CV*), simetría de Bowker y gráficos de sesgo por edad, los cuales se explican más adelante (sección 6.4). Sobre la base de estos resultados se eligió el tratamiento más adecuado, el cual fue aplicado al total de las muestras según el tamaño.

6.3.3. Tamaño de muestra final

Una vez evaluado el grosor de corte y las tinciones más adecuadas, se realizó el corte y limpieza de 632 vértebras, dos cortes por individuo, utilizando siempre las vértebras más grandes de cada organismo. Uno de los cortes funcionó como control, por lo cual permaneció sin tinción. Las vértebras pequeñas (n= 116) y

grandes (n= 35) fueron teñidas con marrón de Bismarck (0.05%) durante tres y siete minutos respectivamente, mientras que las vértebras medianas (n= 165) fueron utilizadas sin ningún tratamiento adicional, dado que ninguno de los tratamientos mejoro la visualización de las marcas.

6.3.4. Conteo final de bandas de crecimiento

Una vez teñidos todos los cortes de vértebras grandes y pequeñas, estos fueron montados sobre portaobjetos utilizando una resina sintética (Cytoseal 60) observados al microscopio estereoscópico (Meiji Techno, EMZ-8TR) con luz transmitida (10 X y 20X) y fotografiados con una cámara digital (Meiji, Infinity 1). En total se realizaron lecturas sobre 316 fotografías de cortes sagitales en las que se evaluaron el número de bandas presentes, así como la calidad de la visualización de las mismas (buena, regular y mala).

La marca de nacimiento fue identificada como la primera banda traslúcida encontrada de manera distal al foco, la cual está seguida por un cambio en el ángulo en la *intermedialia* de la vértebra (Fig. 3). A partir de dicha banda se estimó la edad, contando el número de pares de bandas, una opaca (ancha) y una traslúcida (delgada), presentes en el corte vertebral (Cailliet *et al.*, 1983; Soler, 2006; Smith *et al.*, 2007). Se consideraron como falsas, aquellas bandas que solo se presentan en una de las regiones de la vértebra y eran confusas, por lo cual no fueron contadas (Cassleman, 1983). Las observaciones y conteo de los pares de bandas lo llevaron a cabo dos lectores de manera independiente, el lector 1 fue considerado el de mayor experiencia. Previo a los conteos, los criterios de las lecturas fueron acordados entre lectores, además los datos biométricos de cada individuo fueron reservados para evitar sesgos en la estimación de la edad.

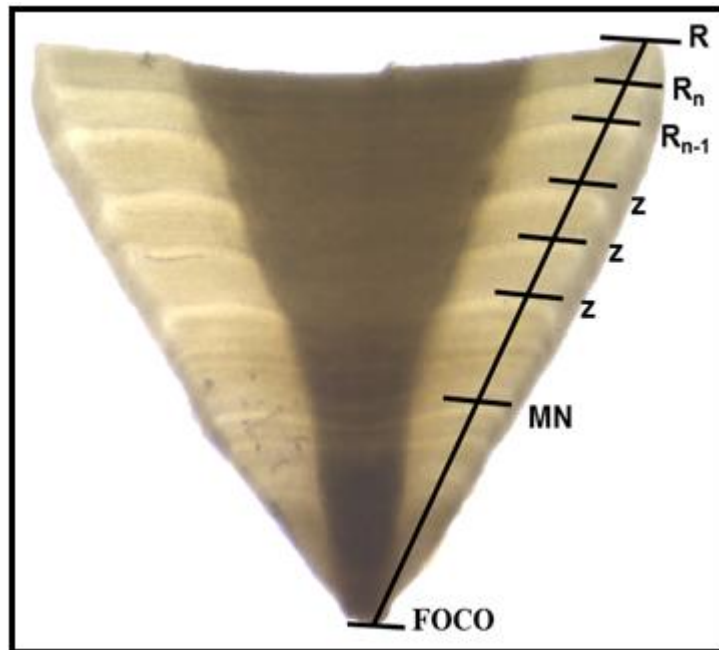


Figura 3. Fotografía de un corte sagital (0.4 mm) de una vértebra sin tinción de *Dasyatis dipterura* (1.5X, luz transmitida). En la fotografía se muestran las siguientes medidas: R = radio de la vértebra, R_n = distancia del foco a la última banda, R_{n-1} = distancia del foco a la penúltima banda, MN = marca de nacimiento y z : distancia del foco a cada banda de crecimiento.

6.4. Análisis cualitativos y de precisión y sesgo entre lectores

Los análisis cualitativos y cuantitativos que se utilizaron para calificar el mejor tratamiento para visualización de las bandas de crecimiento y para los conteos finales se detallan a continuación:

6.4.1. Porcentaje de vértebras leídas y nivel de visualización

El porcentaje de vértebras leídas, indica si la vértebra de cada individuo pudo ser contada o no, y se obtiene considerando las observaciones y conteos de las bandas de crecimiento de los dos lectores. El nivel de visualización se refiere a la calidad del corte, es decir, si el corte es *bueno* (no hay discrepancia del número de bandas entre lectores), *regular* (se observan bandas bien definidas y algunas confusas) y *malo* (existe una alta discrepancia entre lectores debido a que las marcas se leen con dificultad).

6.4.2. Porcentaje de acuerdo entre lectores (*PA*)

Evalúa la precisión y reproducibilidad de las lecturas de bandas de crecimiento (Cailliet & Goldman, 2004), el porcentaje de acuerdo entre lectores se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$PA = (LI / TL) * 100$$

donde:

PA= porcentaje de acuerdo

LI = número de coincidencias en las lecturas realizadas

TL= número total de lecturas

6.4.3. Porcentaje de error promedio (*PEP*)

Determina el porcentaje de error entre las observaciones realizadas por los lectores (Beamish & Fournier, 1981):

$$PEP = 100\% \times \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \left[\frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{(X_{ij} - X_j)}{X_j} \right]$$

donde:

R= número de lectores

X_j= promedio del número de pares de bandas calculada para el *j*-ésimo individuo

X_{ij}= *i*-ésima lectura del *j*-ésimo individuo

N= número total de individuos por tratamiento o por tamaño

6.4.4. Coeficiente de variación (*CV*)

Estima la diferencia absoluta entre las lecturas (Chang, 1982):

$$CV = \sqrt{\frac{\left(\frac{\sum (X_{ij} - X_j)^2}{R(R-1)} \right)}{X_j}} \times 100$$

donde:

X_{ij} = i -ésima estimación para el j -ésimo individuo

X_j = edad promedio calculada para el j -ésimo individuo

R = número de veces que se estimó la edad del individuo i .

6.4.5. Prueba de simetría de Bowker (Hoening *et al.*, 1995)

Evalúa si las diferencias entre los lectores son sistemáticas o son producto del azar, tiene como base la distribución de chi-cuadrado. Valores de $p < 0.05$ en esta prueba, indican errores sistemáticos en las lecturas, mientras que valores de $p > 0.05$, indican que los errores son aleatorios.

6.4.6. Análisis de sesgo por edad

Evalúa el sesgo entre los lectores, considerando las bandas de crecimiento leídas por el lector 1 contra el promedio de bandas de crecimiento leídas por el lector 2 con respecto al lector 1. Los registros representados sobre la línea de 45° , muestran los valores con mayor concordancia entre las lecturas de ambos lectores (Cailliet *et al.*, 2006).

6.5. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento

6.5.1. Análisis de borde (AB)

El análisis de borde, es una aproximación cualitativa a partir de la cual se puede inferir si la última banda de cada vértebra está en proceso de formación (oscura) o concluyendo dicho proceso (clara). Para definir el tipo de borde se utilizaron cuatro categorías: oscura iniciando (delgada), oscura finalizando (gruesa), clara iniciando (delgada) y clara finalizando (gruesa). El porcentaje de frecuencia de cada tipo de borde se estimó de forma mensual y se representó de forma gráfica.

6.5.2. Análisis del incremento marginal (*IM*)

Análisis cuantitativo a través del cual se establece la periodicidad de la formación de las marcas de crecimiento en las vértebras, a partir de la medición de las bandas en el borde de las estructuras. Para este análisis se realizaron mediciones de las vértebras sobre las fotografías de los cortes en los que fueron hechas las lecturas, las medidas fueron tomadas usando el programa *Image Pro Plus 7.0* (Media Cybernetics). Se midió el radio (R), el cual corresponde a la distancia del foco al borde de la vértebra, así como la distancia del foco a la última banda (R_n) y la penúltima banda (R_{n-1} ; Fig. 3). El *IM* se calculó con la siguiente ecuación (Hayashi, 1976):

$$IM = \frac{R - R_n}{R_n - R_{n-1}}$$

Los valores mensuales del incremento marginal fueron representados de manera gráfica, considerando que valores cercanos a la unidad (1) indican que la banda estaba terminando su formación y valores cercanos a cero sugieren que la banda está iniciando su formación.

6.6. Modelos de crecimiento

Con base en los conteos de bandas se asignó la edad a cada uno de los organismos, considerando la banda de nacimiento como la edad 0. Se utilizaron los datos de edad y sus tallas correspondientes (*AD*) de los individuos para describir el patrón de crecimiento individual de hembras y machos de *D. dipterura* mediante un enfoque multimodelo (Katsanevakis, 2006). Para ellos se evaluaron ocho modelos de crecimiento (Tabla 3), entre ellos: el de von Bertalanffy (VBGM), Gompertz (GGM), Logístico (LGM), cada uno ajustado a dos y tres parámetros y Bifásico (TPGM) ajustado con cuatro y cinco parámetros.

El modelo de von Bertalanffy (von Bertalanffy, 1938) ha sido el más utilizado los estudios biológico-pesquero (Arkhipkin & Roa-Ureta, 2005), y asume que las condiciones ambientales son constantes (Araya & Cubillos, 2006), y que al menos

en peces el crecimiento está condicionado a procesos fisiológicos, y es el resultado neto de dos procesos biológicos opuestos, el catabolismo y anabolismo. Por otro lado, el modelo de Gompertz (Ricker, 1979) ha demostrado que describe mejor el crecimiento absoluto de muchas especies acuáticas (Katsanevakis, 2006), presenta una forma sigmoidea y asume un decremento exponencial de la tasa de crecimiento con relación a la edad (Katsanevakis & Maravelias, 2008).

Otro de los modelos utilizados fue el Logístico (Ricker, 1979), que tiende a caracterizar bien el crecimiento cuando éste es relativamente lento en estadios tempranos de vida (Griffiths *et al.*, 2010). Finalmente, el modelo Bifásico (Soriano *et al.*, 1992), el cual describe el crecimiento en dos fases, una de ellas representada por la inflexión de la curva, y al menos en elasmobranquios, se ha relacionado con el inicio de la madurez (Araya & Cubillos, 2006) o con el aumento de la fecundidad (Mejía-Falla *et al.*, 2015).

Tabla 3. Modelos de crecimiento individual ajustados a los datos de talla-edad para individuos de *Dasyatis dipterura* en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. AD_t = ancho del disco a la edad t ; AD_∞ = talla asintótica teórica; k = coeficiente de crecimiento anual, tasa instantánea de crecimiento a la edad t_0 (en Gompertz) y parámetro relativo de la tasa de crecimiento (en Logístico); AD_0 = talla de nacimiento; t_0 = edad teórica a la talla cero; t = edad observada. En el caso de los modelos bifásicos se agregan dos parámetros complementarios, h = representa la diferencia máxima entre el modelo convencional de von Bertalanffy y el modelo bifásico en el punto th ; y th = punto de inflexión.

Modelo	Abreviación	Expresión
von Bertalanffy (2 parámetros)	VBGM-2	$AD_t = AD_\infty - (AD_\infty - AD_0)(e^{-kt})$
von Bertalanffy (3 parámetros)	VBGM-3	$AD_t = AD_\infty \times [1 - e^{-k(t-t_0)}]$
Gompertz (2 parámetros)	GGM-2	$AD_t = AD_0 \times \left[e^{\left[\ln \left[\frac{AD_\infty}{AD_0} \right] \times (1 - e^{-kt}) \right]} \right]$
Gompertz (3 parámetros)	GGM-3	$AD_t = AD_\infty \times e^{-e^{-k(t-t_0)}}$
Logístico (2 parámetros)	LGM-2	$AD_t = AD_\infty \times \left[1 + \left[\frac{AD_\infty - AD_0}{AD_\infty} \right] \times (e^{-kt}) \right]^{-1}$
Logístico (3 parámetros)	LGM-3	$AD_t = \frac{AD_\infty}{1 + e^{-k(t-t_0)}}$
Bifásico (4 parámetros)	TPGM-4	$AD_t = AD_\infty - (AD_\infty - AD_0) \times \left[e^{\left[-k \times t \times \left[1 - \left(\frac{h}{(t-t_h)^2 + 1} \right) \right] \right]} \right]$
Bifásico (5 parámetros)	TPGM-5	$AD_t = AD_\infty \times \left[1 - e^{\left[-k(t-t_0) \times \left[1 - \left(\frac{h}{(t-t_h)^2 + 1} \right) \right] \right]} \right]$

Estos modelos presentan los siguientes parámetros de crecimiento: AD_t = ancho del disco a la edad t ; AD_∞ = talla asintótica teórica, la cual representa el tamaño promedio que los individuos alcanzarían si vivieran indefinidamente; k = coeficiente de crecimiento anual, que indica la tasa a la cual los individuos alcanzan la talla asintótica teórica (VBGM y TPGM), tasa instantánea de crecimiento a la edad t_0 (GGM) y parámetro relativo de la tasa de crecimiento (LGM); AD_0 = talla de nacimiento promedio; t_0 = edad teórica a la talla cero; t = edad observada. En el caso de los modelos bifásicos se agregan dos parámetros complementarios, h representa la diferencia máxima entre el modelo convencional de von Bertalanffy y el modelo bifásico en el punto th ; y th = edad en la cual ocurre la transición entre las dos fases de crecimiento (punto de inflexión).

Los modelos se ajustaron con máxima verosimilitud, utilizando el complemento Solver (Microsoft Excel). El modelo de crecimiento más adecuado, fue seleccionado según su relevancia biológica (datos de los parámetros) y estadística, a partir del criterio de información de Akaike (AIC) y el peso de Akaike (w_i) (Akaike, 1973), los cuales se calcularon a partir de las siguientes expresiones:

$$AIC = 2 \ln(L) + 2p$$

$$w_i = \frac{\exp(-\frac{1}{2} \Delta i)}{\sum \exp(-\frac{1}{2} \Delta r)}$$

donde:

p = número de parámetros

L = máxima verosimilitud

Δi = diferencia entre el AIC de cada modelo y el AIC menor de todos los modelos, es decir:

$$\Delta i = AIC_i - AIC_{min}$$

Los modelos con un Δi entre 0 y 2 tienen un soporte significativo, mientras que los que tengan un Δi entre 4 y 7 presentan un soporte estadístico moderado y aquellos con valores de Δi mayores a 10 no presentan soporte (Burnham & Anderson, 2002).

Cuando solo un modelo no presenta un valor de peso de Akaike mayor a 0.9, o bien, varios modelos presentan soporte estadístico robusto ($\Delta i = 0-2$), es recomendable aplicar una inferencia multimodelo (Burnham & Anderson, 2002), esto es, estimar un promedio de los parámetros ($\bar{\theta}$) a partir de los modelos con mejor soporte, junto con el error estándar asociado a cada uno de ellos ($SE(\bar{\theta})$):

$$\hat{\theta} = \sum_{i=1}^R W_i \times \hat{\theta}_i$$

$$SE(\bar{\theta}) = \sum_{i=1}^n W_i \times [var(\hat{\theta}_i/m_i) + (\hat{\theta}_i - \bar{\theta})^2]^{1/2}$$

donde:

$\bar{\theta}$ = parámetro a promediar

i = modelo

W_i = peso de Akaike del modelo i

$var(\hat{\theta}_i/m_i)$ = varianza del parámetro estimado por el modelo m_i

$\hat{\theta}_i$ = parámetro estimado por el modelo m_i

Para hacer la comparación del crecimiento entre hembras y machos se utilizó la prueba de razón de verosimilitud (Kimura, 1980), que propone utilizar las curvas de crecimiento que mejor se ajusten a los datos (tomando los valores de AIC), la cual se consideró como el caso base de el que se utilizó la suma de los cuadrados contra el cual comparar las hipótesis alternativas: 1.- coincidencia de las curvas, 2.- dos ecuaciones con el mismo valor de AD_{∞} , 3.- dos ecuaciones con el mismo valor de k , 4.- dos ecuaciones con el mismo valor de t_0 (Törnvall-Nazal, 2004; Salgado-Ugarte *et al.*, 2005; Borges *et al.*,

2010) Si no se rechaza la hipótesis de igualdad (coincidencia de curvas), no es necesario estimar las diferencias por parámetros (hipótesis 2-4 antes mencionadas).

Se calculó un estadístico que es comparado con la distribución X^2 , con grados de libertad igual al número de restricciones (N-1).

$$X_k^2 = -N * \ln(RRS_\Omega / RRS_\omega)$$

donde:

k = grados de libertad

N = total de número de observaciones desde ambas curvas

RRS_Ω = suma cuadrática de residuales totales obtenidos desde ambas curvas

RRS_ω = suma de cuadrados residuales totales obtenidos desde el ajuste de curvas con una hipotética restricción (ej. AD_∞ son iguales, k son iguales, t_0 son iguales)

7. Resultados

7.1 Composición de captura

Se recolectaron un total de 316 individuos de *Dasyatis dipterura* durante el periodo octubre 2013 a septiembre 2015. Durante los meses de febrero a agosto se registró la mayor cantidad de individuos (n= 360), mientras que durante los meses de enero, septiembre y octubre se registró el menor número de especímenes (Fig. 4).

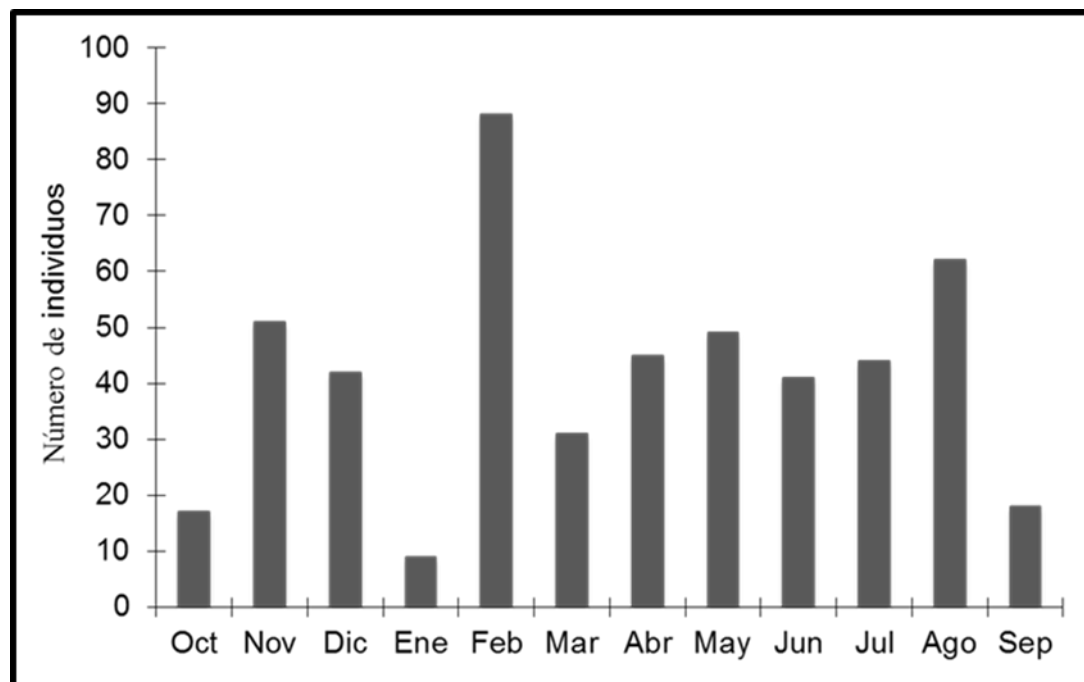


Figura 4. Muestra mensual de ejemplares de *Dasyatis dipterura* durante el periodo octubre 2013- septiembre 2015, en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

En términos generales, durante el periodo octubre de 2013 a septiembre de 2015 (Fig. 5) se capturó un mayor número de hembras (n= 172) que de machos (n= 138), con una proporción sexual 1:25 hembras por cada macho ($\chi^2= 3.93$, gl= 1, $p= 0.95$), a seis de los individuos no fue posible asignar sexo, debido a que la zona de las aletas pélvicas estaban dañadas y al momento de abrir y revisar la gónada se encontraba en estado de descomposición avanzado. Durante todos los meses se registró un mayor número de hembras, con un máximo durante los meses de mayo y agosto. En enero no hubo presencia de machos y el número de hembras recolectadas fue el más bajo de todo el periodo de estudio.

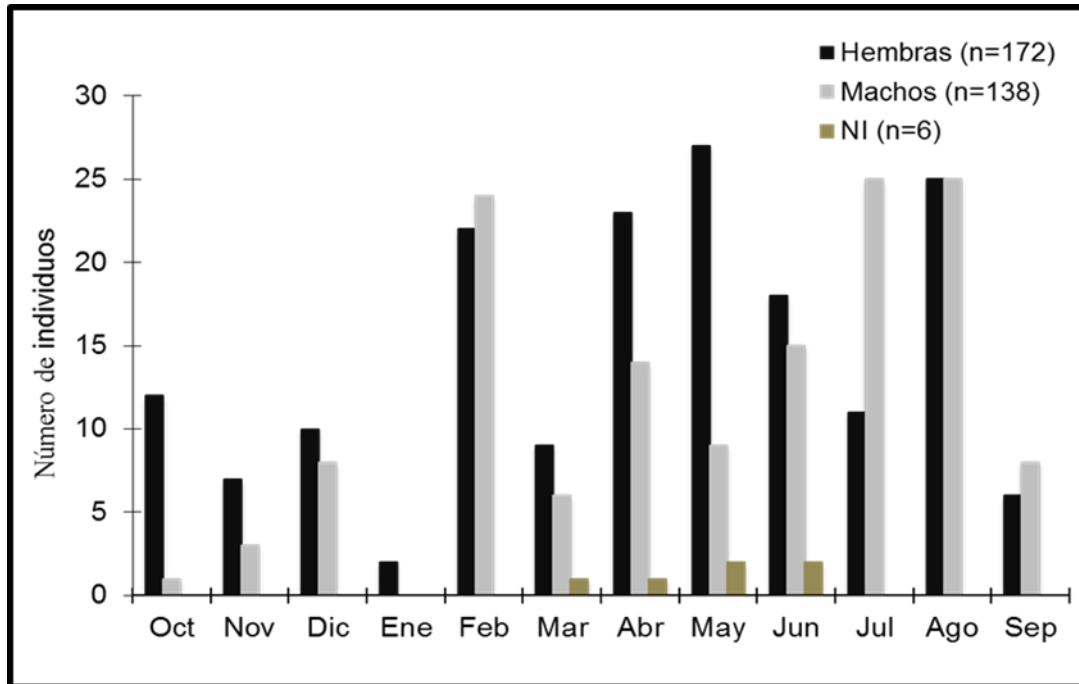


Figura 5. Número de machos y hembras de *Dasyatis dipterura* capturados durante el periodo octubre 2013- septiembre 2015 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México (NI= sexo no identificado).

7.2. Distribución de frecuencias de tallas

El intervalo de tallas para ambos sexos fue de 30.8 a 76.5 cm de ancho de disco (Fig. 6). En general las hembras fueron más frecuentes que los machos en la mayoría las clases de talla (excepto entre 30 y 40 cm) y alcanzaron hasta 20 cm *AD* mayor que los machos. Para los machos el intervalo fue de 30 cm a 57 cm *AD* (promedio= 49.92 ± 9.09) y para las hembras de 30 a 76.5 cm *AD* (promedio= 43.58 ± 5.36). Se encontraron diferencias significativas entre ancho de disco de hembras y machos ($U= 6634$, $p < 0.0001$).

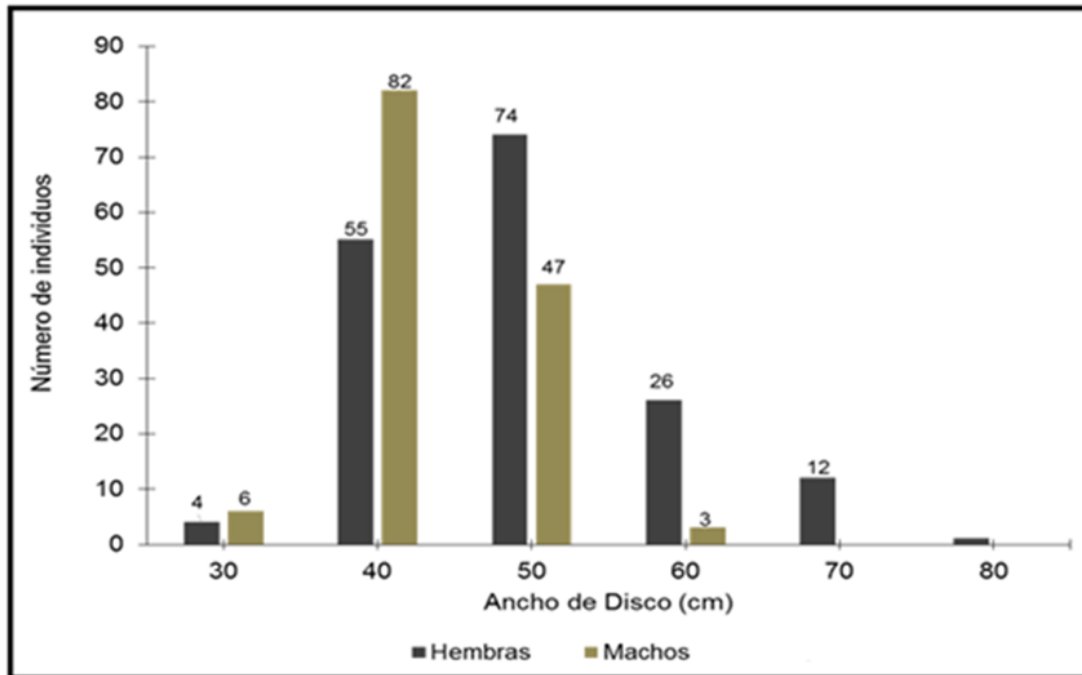


Figura 6. Distribución de frecuencias de tallas de *Dasyatis dipterura* (sexos separados) recolectados durante el periodo octubre 2013- septiembre 2015 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

7.3. Relación del diámetro de la vértebra con la talla del individuo

Sobre la base de los valores del criterio de Akaike, se observó que el diámetro de la vértebra y la talla de los individuos (*AD*) tienen un mejor ajuste a una función de tipo lineal (Tabla 4), lo cual indica que las vértebras de *D. dipterura* crecen de manera proporcional en relación a la talla (*AD*). Por lo tanto, se puede considerar que las vértebras de *D. dipterura* son una estructura adecuada para la estimación de su edad.

Tabla 4. Parámetros de tres modelos de regresión y sus valores del criterio de información de Akaike (*AIC*) para datos del diámetro de la vértebra (*R*) y ancho del disco (*AD*) de *Dasyatis dipterura*.

Relación	a	b	c	Valor de AIC
Lineal	0.095	-1.255	-	-147.87
Cuadrática	0.001	0.037	0.241	-99.91
Isométrica	0.017	1.364	-	-142.43

7.4. Distribución de frecuencias del diámetro de la vértebra

El intervalo del diámetro de los centros vertebrales (n= 2700) fue de 2.27 mm a 11 mm, con un promedio de 6.08 mm y una desviación estándar de 1.24 mm. Sobre la base del rango del diámetro se definieron tres categorías: pequeñas (2.27-4.99 mm), medianas (5.0-7.69 mm) y grandes (7.7- 11.0 mm).

7.5. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento

7.5.1. Definición del grosor de corte

De los tres grosores de corte probados (0.3, 0.4 y 0.5 mm) en las tres categorías de tamaño de los centros vertebrales, se observó que en cortes a 0.3 mm es excesiva la cantidad de luz que atraviesa la estructura, lo cual dificulta la visualización correcta de las marcas de crecimiento. En contraste en los cortes a 0.5 mm, el paso de luz a través de la estructura es muy limitado, lo cual impide una visualización adecuada de las marcas de crecimiento. Se observó que los cortes a 0.4 mm el paso de luz a través de la estructura es adecuado (Fig. 7), permitiendo observar de manera clara y nítida las marcas de crecimiento en el 85 % de los cortes evaluados.

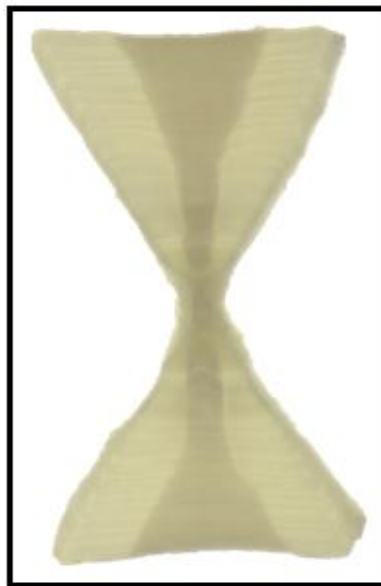


Figura 7. Corte de vértebra de *Dasyatis dipterura* a 0.4 mm con luz transmitida (20X).

7.5.2. Pruebas de tinción y tiempos de tinción

De los seis tintes aplicados a la sub-muestra de 24 individuos, se descartaron el verde claro y la fucsina básica, así como el alcohol y el nitrato de plata debido a que no funcionaron. Se eligieron tres tiempos que mostraron mejores resultados para los tintes rojo de alizarina, cristal violeta, azul de metileno y marrón de Bismarck (Tabla 2).

A partir de los análisis cualitativos (porcentaje vértebras leídas y nivel de visibilidad), de precisión (porcentaje de acuerdo entre lectores-PA, porcentaje de error promedio-PEP y coeficiente de variación-CV) y de sesgo (prueba de simetría de Bowker y gráfico de sesgo por edad), aplicados a la submuestra de 24 individuos, se obtuvieron los siguientes resultados. El valor más alto de *PA* (con 0 bandas de diferencia) registrado en las vértebras grandes fue de 63.6% que corresponde al tinte marrón de Bismarck a 10' (Tabla 5) y al rojo de alizarina 3' y se observaron valores bajos de *PEP* y *CV* para ambos tintes, y un 91.7% de vértebras leídas en ambos casos; sin embargo, la categoría de visibilidad *buena* en el rojo de alizarina 3' fue relativamente baja (8.3%), siendo más alto el de marrón de Bismarck 10' (41.7%, Tabla5, Anexo 1). El tinte marrón de Bismarck a 7' es el tratamiento con el siguiente valor más alto de *PA* (54.5%), el cual presentó y valores más bajos de *PEP* y *CV* en comparación con el marrón de Bismarck 10', e igual porcentaje de vértebras leídas y nivel de visibilidad (*bueno*). De esta forma, y considerando la efectividad y tiempo que requieren los tratamientos, se define el marrón de Bismarck a 7 minutos, como el tratamiento más adecuado para las vértebras grandes.

En el caso de las vértebras medianas el valor más alto de *PA* fue de 75% en el tinte rojo de alizarina a 5' (Tabla 5); además presentó valores de *PEP* y *CV* altos en comparación al resto de los tratamientos (Anexo 1), un 80% de vértebras leídas y un nivel de visibilidad bueno relativamente bajo (13.3%) y un valor de $p= 0.423$. El siguiente valor más alto de *PA* fue para las vértebras no tratadas (sin tinción) con 71.4%, las cuales presentaron valores más bajos de *PEP* y *CV* en comparación al tinte rojo de alizarina 5', con un 100% de vértebras leídas y un nivel de visibilidad del 20% y un valor más alto de $p= 0.544$. Sobre la base de estos resultados, se define no aplicar ningún tratamiento a las vértebras medianas, pues solo cortando los centros vertebrales a 0.4 mm, se logra una visualización adecuada de las bandas de crecimiento.

En las vértebras pequeñas el valor más alto de *PA* se observó en el tinte marrón de Bismarck a 3' con un valor de 57.1% (Tabla 5), con valores de *PEP* y *CV* bajos respecto a los demás tratamientos, un 100% de vértebras leídas, un nivel de visibilidad alto en comparación con el resto de los tratamientos, lo que valida la confiabilidad de este tratamiento para este tamaño.

Tabla 5. Valores de los análisis cualitativos (porcentaje vértebras leídas, nivel de visibilidad), de precisión (porcentaje de acuerdo entre lectores-*PA*, porcentaje de error promedio-*PEP* y coeficiente de variación-*CV*) y de sesgo (prueba de simetría de Bowker- *p*) para los tratamientos aplicados a las vértebras grandes, medianas y pequeñas de *Dasyatis dipterura*.

Tamaño	Tratamiento	Tiempo	PA	PEP	CV	%Leídas	Nivel de visibilidad	Valor de p
Grandes	Marrón de Bismarck	10'	63.6%	5.035	7.120	91.7%	41.7%	0.406
	Marrón de Bismarck	7'	54.5%	3.909	5.528	91.7%	41.7%	0.416
Medianas	Rojo de alizarina	5'	75.0%	22.299	31.536	80%	13.3%	0.423
	Sin tinción	No aplica	71.4%	3.397	4.804	100%	20%	0.544
Pequeñas	Marrón de Bismarck	3'	57.1%	11.395	16.114	100%	14.3%	0.343

Se observó que en las vértebras pequeñas y grandes, los tintes tuvieron un efecto mayor sobre las lecturas de las marcas, registrando valores de *p* más altos, esto mostró que las diferencias en las lecturas de bandas de crecimiento son aleatorias. El resto de las combinaciones de tratamientos aplicados a los tres tamaños de vértebras se pueden observar en el Anexo 1.

Los gráficos de sesgo por edad para los tratamientos aplicados a la submuestra indicaron que las vértebras medianas sin tinción (control) mostraron una mayor concordancia en las lecturas entre los lectores, en comparación a las vértebras pequeñas y algunos individuos de talla grande. En el caso del tratamiento con agua se observó que existe una menor precisión en las lecturas de bandas entre lectores, comparadas con las realizadas con alcohol, y no se consideró como un tratamiento adecuado (Fig. 8).

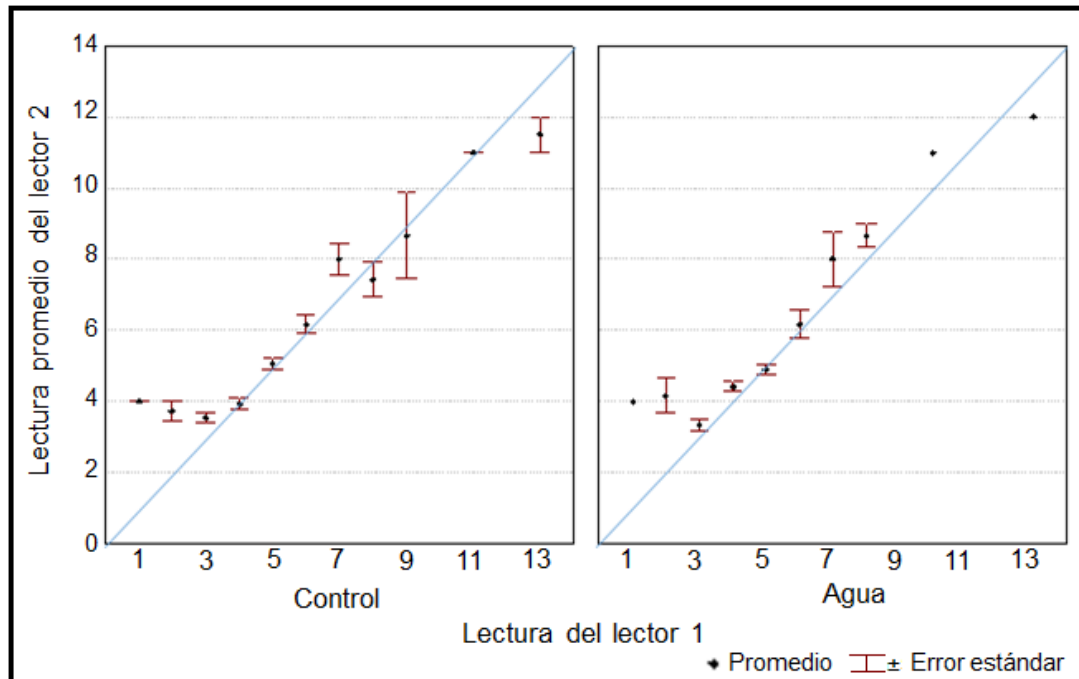


Figura 8. Gráficos de sesgo por edad para los tratamientos control (sin tinción) y agua, aplicados a los cortes sagitales de centros vertebrales de *Dasyatis dipterura*.

En los gráficos de los tratamiento (tinte + tiempo de exposición, Fig. 9a, b, c) aplicados a los cortes vertebrales de *D. dipterura* para los tres tamaños de vértebras, se observó que las vértebras medianas son las que menor sesgo (aleatorio) presentan en los conteos de los pares de bandas entre los lectores, a excepción de los tratamientos de cristal violeta a 10 y 15 minutos, en los que se observan que las lecturas estuvieron por debajo del acuerdo total. En el caso de las vértebras grandes el cristal violeta a 7 minutos y rojo de alizarina a 3 minutos, presentaron menor concordancia en los conteos (Fig. 9d).

En el tinte rojo de alizarina a 7 minutos y marrón de Bismarck a 5 minutos (Fig. 9a y 9c) se aprecia que a partir de 8 bandas de crecimiento, fue menor el acuerdo entre los lectores. En contraste, el cristal violeta y rojo de alizarina a 5 minutos mostraron mayor concordancia entre ambos lectores (Fig. 9a y 9d).

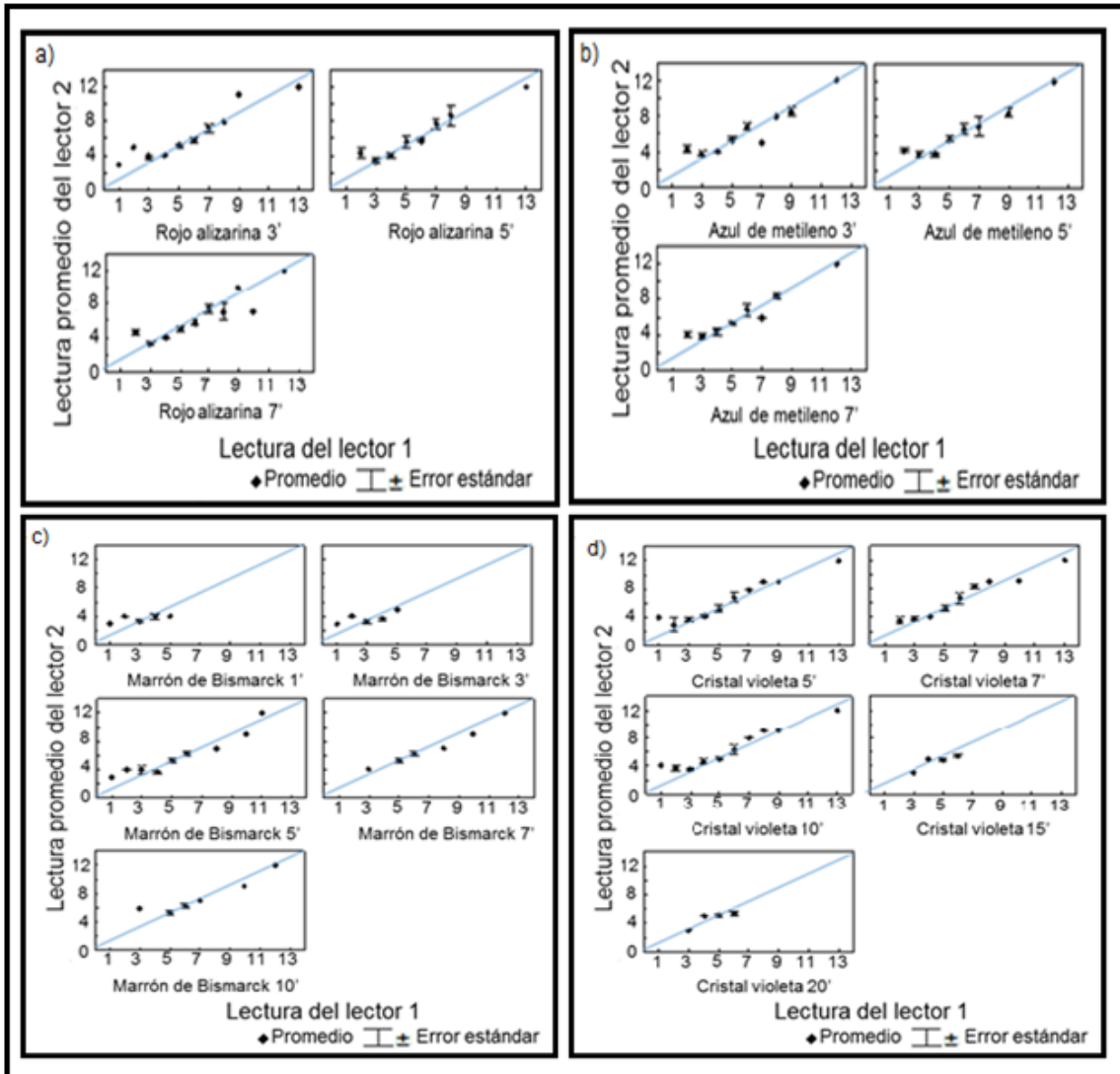


Figura 9. Gráficos de sesgo por edad para los tratamientos aplicados a los cortes sagitales de los tres tamaños de vértebra de *Dasyatis diptera*. a) rojo de alizarina 3, 5, 7 minutos. b) azul de metileno 3, 5, 7 minutos. c) marrón de Bismarck 1, 3, 5, 7, 10 minutos. d) cristal violeta 5, 7, 10, 15, 20 minutos.

Sobre la base de los criterios anteriores, los tintes que resultaron más adecuados para mejorar la visualización de las bandas de crecimiento en los centros vertebrales de *D. diptera*, fueron marrón de Bismarck para las vértebras pequeñas (tres minutos) y grandes (siete minutos). En el caso de las vértebras medianas ninguno de los tintes favoreció en mayor medida la observación de las bandas, por lo cual las lecturas de las bandas se realizaron sobre las estructuras sin tratamiento alguno (Fig. 10).

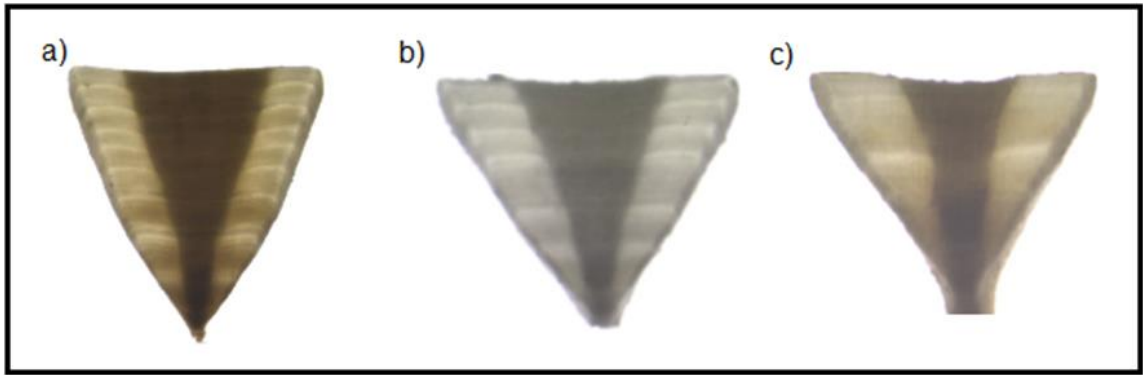


Figura 10. Fotografía de vértebras de *Dasyatis dipterura* cortadas a un grosor de 0.4 mm. a) Vértebra grande teñida con marrón de Bismarck a siete minutos (0.7X, luz transmitida). b) Vértebra mediana sin tinción (1.5X, luz transmitida). c) Vértebra pequeña teñida con marrón de Bismarck a tres minutos (1.5X, luz transmitida).

7.5.3. Análisis cualitativos de precisión y de sesgo para la lectura final

En las lecturas finales se contaron el 100% de vértebras de la muestra con un nivel de visibilidad de 43.2% y con un porcentaje de acuerdo total, esto es diferencia 0, igual a 76.8%. El porcentaje de error y el coeficiente de variación fueron relativamente bajos ($PEP= 3.42\%$, $CV= 4.84\%$) y para la prueba de Bowker se obtuvo un valor de $p= 0.99$. Con base a estos valores, se sugiere que no existe sesgo sistemático, en cuanto a los conteos de bandas de los lectores, con lo cual esto se confirma la confiabilidad de las tres técnicas seleccionadas para la estimación de la edad de esta especie.

El gráfico de sesgo por edad (Fig. 11) mostró que las lecturas de los organismos de talla pequeña a mediana tuvieron menor diferencia del acuerdo total, mientras que individuos que registraron un número igual o mayor a 12 bandas presentaron menor concordancia en las lecturas. Se contaron hasta 15 bandas de crecimiento, tomando en cuenta la banda de nacimiento.

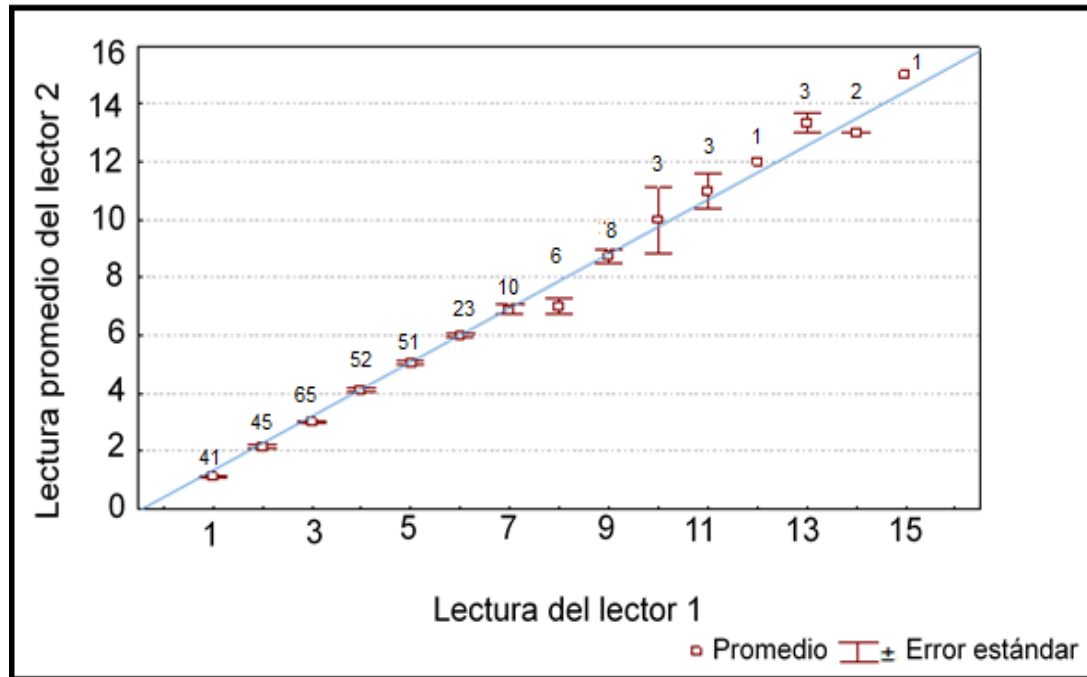


Figura 11. Gráfico de sesgo por edad de las lecturas finales de bandas de crecimiento en las vértebras de *Dasyatis diptera*.

7.6. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento

Durante los meses de octubre y noviembre se presentaron los valores de la mediana de incremento marginal más bajo, mientras los más altos se presentaron en enero y febrero. Sin embargo, la alta variación del IM en cada mes, y el tamaño de muestra reducido en el mes de enero (n= 2), no permite afirmar completamente a estos meses como aquellos de inicio y finalización de pares de bandas de crecimiento (Fig. 12)

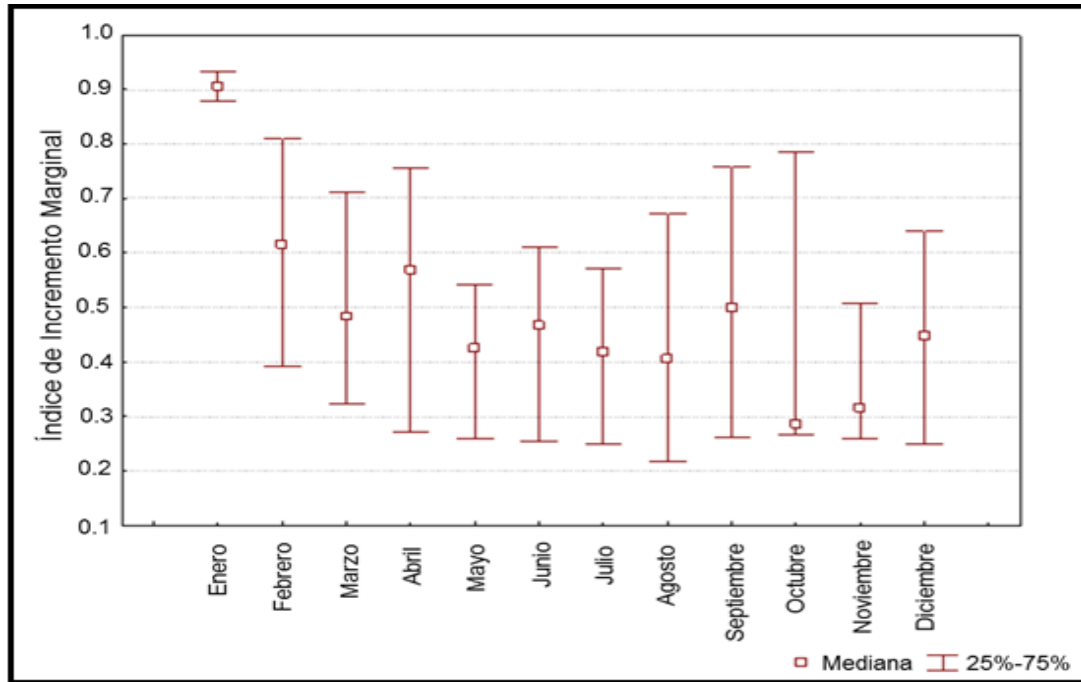


Figura 12. Variación del índice de Incremento Marginal de las vértebras de *Dasyatis dipterura* en los meses de muestreo.

En el análisis de borde se observó una mayor frecuencia de cortes con borde oscuro-iniciando durante los meses de mayo, julio, agosto y octubre; mientras que durante los meses de noviembre y diciembre se observa un incremento en el porcentaje de cortes con borde claro-finalizado, indicando que la banda de crecimiento está concluyendo su formación. Sin embargo, la variación de la proporción por tipo de borde a lo largo de los meses examinados no mostró un patrón contundente que sugiera de forma clara el periodo de formación de las bandas de crecimiento (Fig. 13). Por lo anterior, se tomó en cuenta lo reportado por otros autores como Smith *et al.* (2007) y Galdámez-Olmedo (2014) para *D. dipterura*, los cuales sugieren que la formación de las bandas de crecimiento es anual.

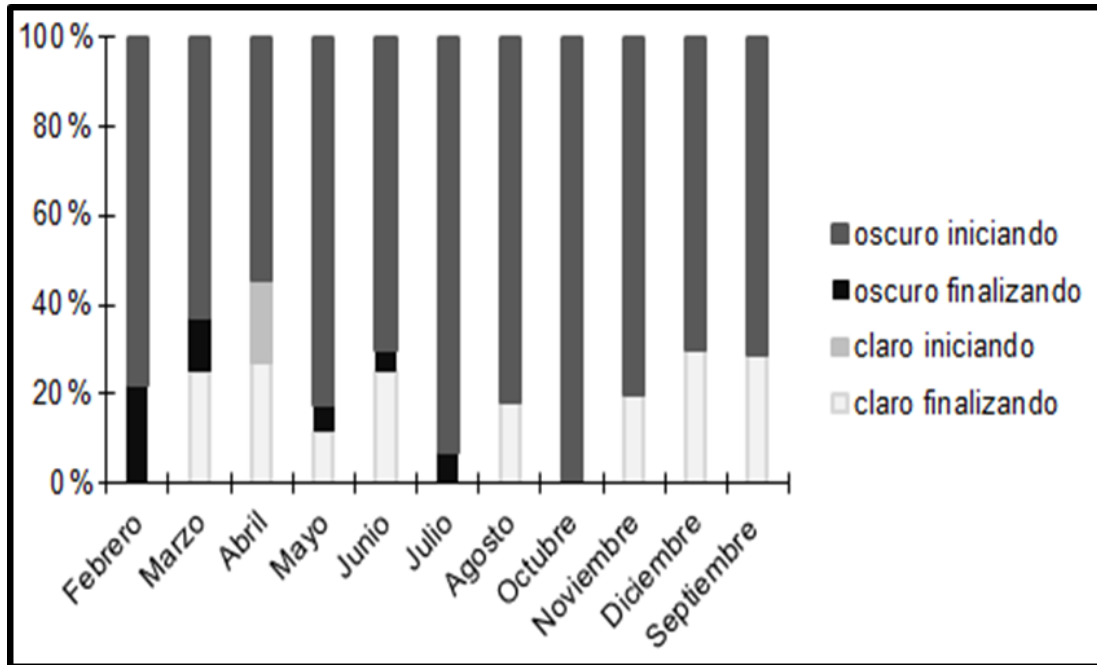


Figura 13. Variación del tipo de borde en las vértebras de *Dasyatis dipterura* durante los meses del muestreo.

7.7. Modelos de crecimiento

Los modelos de von Bertalanffy, Gompertz y Logístico (todos de tres parámetros) presentaron el mejor ajuste para los datos de las hembras según el criterio de información de Akaike (AIC), el peso de Akaike (23%, 32% y 40%, respectivamente) y valores de Δi entre 0 a 1.16, lo cual indica que estos modelos tienen un soporte estadístico alto, por lo tanto, son candidatos adecuados para representar el crecimiento de las hembras de *D. dipterura* (Tabla 6; Fig. 14).

Se podría decir que el modelo que describe mejor los datos de las hembras, considerando el peso de Akaike y Δi fue el LGM-3, además, su valor de AD^∞ es similar al AD máximo observado. El modelo que le siguió fue el de GGM-3 dando valores de AD^∞ muy similar al AD máximo observado, mientras que el modelo de VBG-3 sobreestimó este mismo parámetro. Los tres modelos sobrestimaron el parámetro de AD_0 .

Tabla 6. Parámetros de crecimiento ajustados a los datos de talla (AD) y edad para hembras y machos de *Dasyatis dipterura* capturadas en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México y criterios de ajuste y selección de los modelos de crecimiento. VBGM-2, VBGM-3 son variantes del modelo de von Bertalanffy, GGM-2 y GGM-3 son variantes del modelo de Gompertz; LGM-2 y LGM-3 son variantes del modelo logístico, TPGM-4 y TPGM-5 son variantes del modelo bifásico. AD_{∞} = ancho de disco infinito, k = coeficiente de crecimiento, AD_0 = ancho del disco al nacer; MSE= cuadrado medio del error, RSS= suma de cuadrados de los residuales; criterio de información de Akaike (AIC), Δ_i = delta de Akaike y w = peso de Akaike.

Sexo	Modelo	AD_{∞}	k	AD_0	MSE	RSS	AIC	Δ_i	w
Hembras	VBGM-3	81.43	0.11	36.74	19.05	3277.00	1001.03	1.164	0.23
	VBGM-2	67.56	0.26	28.00	29.15	5013.71	1072.17	72.306	0.00
	GGM-3	76.20	0.16	36.96	18.973	3263.39	1000.32	0.448	0.32
	GGM-2	65.41	0.36	28.00	30.806	5298.55	1081.68	81.810	0.00
	LGM-3	73.35	0.22	37.17	18.92	3254.91	999.87	0.000	0.40
	LGM-2	63.08	0.25	40.54	25.77	4432.10	1050.97	51.098	0.00
	TPGM-5	78.01	0.13	36.46	18.95	3258.86	1004.08	4.209	0.05
	TPGM-4	67.75	0.30	28.00	27.06	4653.73	1063.36	63.491	0.00
Machos	VBGM-3	64.36	0.12	37.19	10.40	1435.84	720.86	1.671	0.17
	VBGM-2	50.20	0.61	28.00	26.45	3650.04	847.61	128.423	0.00
	GGM-3	62.23	0.17	37.22	10.385	1433.14	720.60	1.411	0.19
	GGM-2	49.64	0.75	28.00	26.732	3688.97	849.07	129.887	0.00
	LGM-3	59.45	0.22	37.22	10.37	1431.20	720.41	1.224	0.21
	LGM-2	55.67	0.27	37.19	10.43	1439.27	719.19	0.000	0.38
	TPGM-5	63.73	0.11	37.37	10.28	1418.70	723.20	4.014	0.05
	TPGM-4	49.89	0.61	28.00	26.43	3647.35	851.51	132.321	0.00

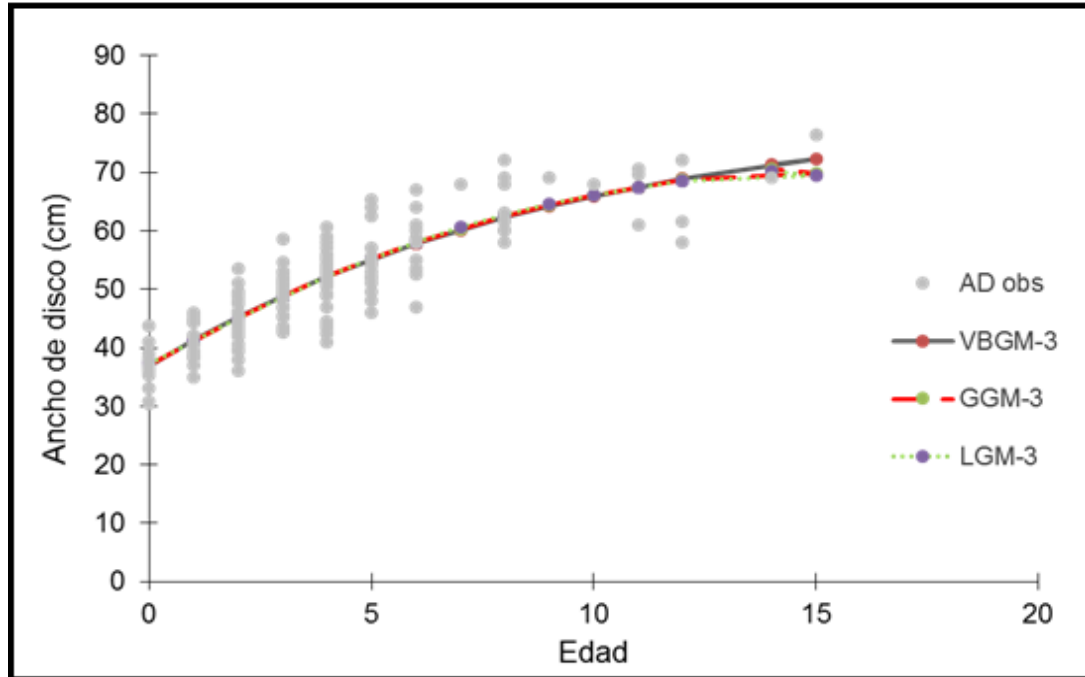


Figura 14. Curvas de crecimiento de von Bertalanffy (tres parámetros), Gompertz (tres parámetros) y Logístico (tres parámetros) ajustadas a datos de talla- edad para hembras de *Dasyatis diptera* en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

Para los machos de *D. diptera* se encontró que los modelos de von Bertalanffy, Gompertz, ambos de 3 parámetros, y Logístico de dos y tres parámetros, tuvieron un mejor ajuste, considerando los valores de AIC y el peso de Akaike (17%, 19%, 21% y 38% respectivamente) y valores bajos Δi (Tabla 6; Fig.15). Se puede considerar que el modelo que mejor describe los datos de los machos, tomando en cuenta el peso de Akaike y valores de Δi fue el LGM-2, además de presentar un valor de AD^∞ similar al AD máximo observado.

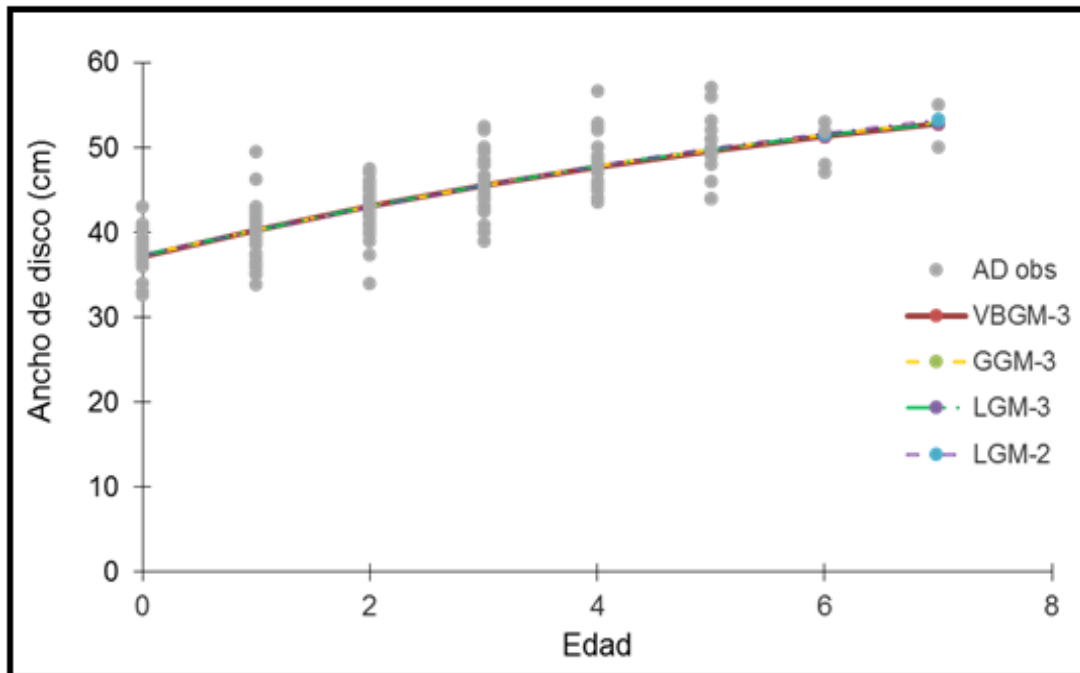


Figura 15. Curvas de crecimiento de von Bertalanffy (tres parámetros), Gompertz (tres parámetros), Logístico (dos y tres parámetros) ajustadas a datos de talla- edad para machos de *Dasyatis dipterura* en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

Debido a que ninguno de los modelos presentó un valor de pesos de Akaike mayor a 0.9 y varios modelos presentaron soporte estadístico ($\Delta_i = 0-2$), se utilizó entonces la inferencia multimodelo para estimar los parámetros más adecuados, se estimó un valor ponderado de AD_{∞} para hembras igual a 76.23 cm, similar al AD máximo observado, y una talla de nacimiento (AD_0) igual a 37 cm; en el caso del parámetro k en los tres modelos con mejor ajuste, no tiene el mismo significado, por lo que no puede ser ponderado, dando un intervalo de $(k) = 0.11$ a 0.22 cm/año, mostrando un comportamiento similar en los tres modelos (Fig. 14) y para los machos un valor de AD_{∞} igual a 59.34 cm, similar al AD máximo observado, y una talla de nacimiento igual a 37.2 cm (Fig. 15).

Para hacer la comparación de las curvas de crecimiento con la razón de verosimilitud se utilizó el modelo Logístico de tres parámetros (tomando los resultados de AIC) para hembras y machos, el cual no mostró coincidencias en las curvas, así como en los parámetros de AD_{∞} y k , mientras que el parámetro de t_0 se consideró similar ($X^2 = 1.91$, $gl = 1$, $p = 0.166$).

8. Discusión

8.1. Composición de captura

La información que se utilizó en este trabajo proviene de 316 organismos de *D. dipterura* capturados durante el periodo octubre 2013 a septiembre 2015 en las inmediaciones de la Isla Espíritu Santo, BCS, en la que se observó que la mayor frecuencia de individuos se presentó durante los meses de febrero a agosto, lo cual coincide con lo reportado por Bizzarro *et al.* (2009) para la misma especie en las capturas comerciales de la pesquería artesanal de Sinaloa durante el periodo primavera-verano (marzo-agosto), y señalan que es la segunda especie de batoideos mejor representada en la pesquería artesanal de elasmobranquios del Golfo de California (Márquez-Farías, 2002; Bizzarro *et al.*, 2009).

En general, se ha reportado que en la mayoría de las especies de elasmobranquios, las hembras son las que alcanzan las tallas mayores, hecho que es asociado a procesos biológicos tales como la reproducción (Frisk, 2010). En el caso de *D. dipterura* se encontró que las hembras estuvieron mejor representadas en las capturas y presentaron tallas mayores a la de los machos, coincidiendo con lo reportado por Meléndez (1997) para Bahía Almejas, BCS (hembras= 83 cm *AD* y machos= 72 cm *AD*) y Smith *et al.* (2007) para el complejo lagunar Bahía Magdalena, BCS (hembras= 100 cm *AD* y machos= 60 cm *AD*). Por otro lado, en las costas de Sinaloa, Bizarro *et al.* (2009) reportan tallas relativamente más pequeñas (hembras= 94 cm *AD* y machos= 58 cm *AD*) en las capturas artesanales de este recurso. Considerando estos reportes, se puede indicar que las tallas de los organismos capturados en la Bahía de La Paz son más parecidas a las encontradas en las costas de Sinaloa y relativamente más pequeñas a las tallas de los organismos capturados en el complejo Bahía Magdalena-Almejas. Estas diferencias pueden ser atribuidas principalmente a las condiciones ambientales como temperatura y la disponibilidad de alimento de cada localidad (Meléndez, 1997).

Durante los meses de muestreo la captura de hembras fue generalmente mayor que la de machos, con un mayor número de hembras durante los meses de febrero y agosto. La mayor frecuencia de hembras capturadas en primavera coincide con lo reportado por Bizarro *et al.* (2009) para las costas de Sinaloa, disminuyendo significativamente las

capturas durante el invierno, dicho patrón puede estar relacionado a los movimientos migratorios estacionales reportados para la especie (Mathew & Duck, 1975).

8.2. Relación del diámetro de la vértebra con la talla del individuo

El diámetro de los centros vertebrales y la talla de los organismos (*AD*) se ajustaron de mejor forma a un modelo de regresión lineal según el criterio de Akaike, con lo cual se demuestra que las vértebras de *D. dipterura* crecen de manera proporcional en relación a su ancho de disco, por lo tanto se puede asumir que son una estructura adecuada para la estimación de la edad. Esta relación de tipo lineal entre el diámetro de la vértebra y la talla de los individuos ya había sido reportada previamente por Smith *et al.* (2007) y Galdámez-Olmedo (2014) para la misma especie.

8.3. Tratamiento para la visualización de las marcas de crecimiento

8.3.1. Definición del grosor de corte

Una de las etapas clave para definir la técnica más adecuada para la visualización de las bandas de crecimiento en centros vertebrales de cualquier especie de batoideo que pretendan ser contadas y utilizadas para estimar la edad y crecimiento consiste en evaluar el grosor de corte que resulte más adecuado para permitir el paso de la luz a través de la estructura y en consecuencia, sea más clara la visualización de las marcas. En el caso de los cortes sagitales de las vértebras para *D. dipterura* se encontró que en el grosor de 0.3 mm hay paso excesivo de luz a través del corte, lo cual resulta contraproducente, pues en consecuencia produciría una contabilización mayor del número de marcas, en contraste con el corte de 0.5 mm, que no permitió el paso de luz, y podría llevar a una subestimación de las bandas de crecimiento, por lo que ambos grosores fueron descartados. Las observaciones realizadas en el corte de 0.4 mm mostraron un paso de luz óptimo a través de la estructura, esto es, las marcas se apreciaban de forma clara, por lo que se seleccionó como el más adecuado para la visualización de las bandas de crecimiento de *D. dipterura*.

Estos resultados difieren de lo reportado para la misma especie por Smith *et al.* (2007) quienes definen el grosor de corte a 0.3 mm como el más adecuado para la

visualización de las bandas de crecimiento, y por Galdámez-Olmedo (2014), quien reportó el método de quemado en cortes de 0.7 mm como la mejor opción para el mismo fin.

Recientemente, otros estudios realizados con otras especies de batoideos, concuerdan con el presente trabajo, como lo reportado por Mejía-Falla *et al.* (2014) para *Urotrygon rogersi* y Torres-Palacios (2015) para *U. aspidura*, quienes concluyeron que los cortes de 0.4 mm permiten la mejor calidad en la visualización de las bandas de crecimiento en centros vertebrales de dichas especies. Sin embargo, en otras especies el grosor óptimo para visualizar las marcas de forma correcta es diferente, por ejemplo, Pérez-Rojas (2013) reporta que para *Narcine leoparda*, un grosor de corte a 0.5 mm es conveniente para observar de forma correcta las marcas de crecimiento en esta especie. Estas similitudes y diferencias encontradas entre los grosores de corte en diferentes especies de batoideos, apoya la propuesta de la necesidad de evaluar, con mayor rigor, aquellos factores como el almacenamiento y preparación de las muestras que afectan en mayor o menor medida la visualización adecuada de las marcas de crecimiento en las vértebras de peces cartilaginosos.

8.3.2. Tinciones

Estudios previos que han evaluado la eficacia de diferentes tipo de tinciones en la visualización de marcas de crecimiento en centros vertebrales sugieren que no existe un tratamiento estándar al menos para elasmobranquios (Zavatteri, 2010, Pérez-Rojas, 2013; Torres-Palacios, 2015), ya que la calcificación que presenta cada especie está sujeta a diferencias en el ambiente donde habitan los individuos (Natanson *et al.*, 1993). Por tanto, resulta importante desarrollar pruebas preliminares para evaluar la claridad y nitidez de las marcas de crecimiento antes de proceder a su contabilización (Goldman, 2005).

En el presente trabajo, con base a las pruebas de tinción preliminares, y considerando la claridad y nitidez con las que se observaron las marcas de crecimiento, se descartaron tres colorantes, así como el tratamiento con alcohol (Tabla 2). Así mismo, de los tintes aplicados en tres tiempos diferentes y que no fueron empleados en el tratamiento final por presentar valores bajos en los conteos de marcas, fueron los tratamientos con azul de metileno y cristal violeta. Los anteriores resultados concuerdan con los tratamientos de tinción evaluados para la misma especie por Galdámez-Olmedo

(2014); quien reporta que estos dos tintes no aportan resultados confiables, ya que no se observan con claridad las bandas de crecimiento. En el caso de cristal violeta, este resultado contrasta con lo reportado para *N. leoparda* por Pérez-Rojas (2013), en dicho estudio es reportado que el cristal violeta a 3 minutos funciona adecuadamente para apreciar de forma correcta las marcas de crecimiento. Los valores bajos que se obtuvieron en la precisión de las lecturas en el azul de metileno difiere de lo reportado por Torres-Palacios (2015) quien utilizó este tinte como tratamiento final para vértebras grandes y medianas de *U. aspidura*. El tipo de tratamiento utilizado para cada especie puede estar relacionado con diferentes propiedades físico-químicas de la vértebras (p.e. textura, concentración diferencial de sales), lo cual influye en la concentración del tinte que debe ser utilizada o bien en el tiempo de exposición al que deben estar expuestos los cortes.

8.4. Análisis de precisión y sesgo

Para evaluar la precisión y el sesgo en las lecturas de bandas de crecimiento en elasmobranquios, se han utilizado diversas pruebas estadísticas para evaluar la confiabilidad de los conteos entre los lectores (Cailliet *et al.*, 2006). En este estudio, se utilizaron diferentes pruebas aplicadas al conteo de las bandas de crecimiento en *D. dipterura*, encontrando que los resultados son consistentes con los obtenidos en otros trabajos para especies similares (Pérez-Rojas, 2003; Smith *et al.*, 2007; Zattereri, 2010; Dale & Holland, 2012; Mejía-Falla, 2012; Torres-Palacios, 2015, Girgin *et al.*, 2016, Pabón-Aldana, 2016).

Con base en las pruebas de precisión y sesgo en seis tintes diferentes, se concluyó que el tratamiento más adecuado para las vértebras grandes y pequeñas fue el tinte marrón de Bismarck a 7 y 3 minutos respectivamente y, para las vértebras medianas, no hubo necesidad de utilizar ningún tratamiento de tinción para resaltar las marcas de crecimiento. Mejía-Falla (2012) y Pabón-Aldana (2016), anteriormente han reportado que en ocasiones no es necesario teñir la estructura para obtener buenos resultados, dejando la elección de teñir o no los cortes tomando en cuenta que lo más adecuado es aquel tratamiento que menor esfuerzo, tiempo y costo represente. Estos resultados soportan la importancia de generar una técnica definida para cada especie en estudio y demuestra

que no se puede establecer una técnica estándar para la visualización de las bandas de crecimiento, al menos en peces batoideos.

8.5. Conteos finales de bandas de crecimiento

En este trabajo fue posible leer el ciento por ciento de las muestras designadas para para la estimación de la edad y crecimiento de *D. dipterura*, con un valor de *PA* alto a cero bandas de desacuerdo, así como valores bajos de *PEP* y *CV*, con un valor de $p= 0.99$, lo que indica que las lecturas tienen una mayor precisión y no presentan errores sistemáticos, resultando adecuadas para la estimación de la edad. Estos resultados difieren de lo reportado por Smith *et al.* (2007); quienes reportan valores relativamente altos de *PEP* y *CV* (9.85 % y 13.18%) para esta especie. Estas diferencias podrían deberse a que los organismos de Bahía Magdalena fueron almacenados en alcohol isopropílico al 70%, dificultando la claridad de las bandas y la precisión de las estimaciones de edad. Por ello se recomienda que el almacenamiento de las vértebras sea en seco o congeladas (Smith *et al.*, 2007).

En el gráfico de sesgo se mostró que los individuos en los que se leyeron un número mayor de 12 bandas presentaron menor concordancia en las lecturas. Esto puede deberse a que los pares de bandas que se encuentran cercanos al borde de la estructura están muy próximos entre sí, dificultando la visualización de los mismos y generando una mayor diferencia entre el lector 1 y el lector 2 (Torres-Palacios, 2015; Mejía-Falla, comp. pers.¹).

La técnica final que se aplicó en el presente trabajo (cortes de 0.4 mm y vértebras teñidas con marrón de Bismarck o sin tinción) difiere de lo reportado por Smith *et al.* (2007) y Galdámez-Olmedo (2014) para la misma especie; donde reportan un tratamiento final con aceite de inmersión en cortes de 0.3 mm y técnica de quemado de vértebras con cortes de 0.7 mm respectivamente.

8.6. Validación de la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento

Debido a la variación mensual que se encontró en el análisis de tipo de borde y el incremento marginal, no se encontró un patrón definido que permitiera indicar los meses

¹ Dra. Paola Andrea Mejía Falla, Ph.D. Directora Científica, Fundación SQUALUS. www.squalus.org. pmejia@squalus.org. Tel. 57-2-3705589 / Cel: 313-7684741. Calí, Colombia, Suramérica

donde inicia la formación de las bandas de crecimiento. La carencia de un patrón que defina la periodicidad de la formación de bandas pudiera ser efecto del limitado número de muestras que se obtuvo durante algunos meses, esto coincide con lo reportado por otros autores para especies como *Prionace glauca* (Stevens, 1975; Blanco-Parra; 2008); *Carcharhinus obscurus* (Natanson *et al.*, 1995); *Rhizoprionodon porosus* y *Rhizoprionodon lalandii* (Lessa *et al.*, 2009). Tomando en cuenta lo anterior se asumió que la formación de las bandas en *D. diptera* es anual, como lo reportan previamente Smith *et al.* (2007) y Galdámez-Olmedo (2014).

8.7. Modelos de crecimiento

La edad se define como la descripción cuantitativa del tiempo de vida de un organismo y se expresa en el crecimiento individual (Pabón-Aldana, 2016). Por otro lado, el crecimiento se define como el cambio en tamaño corporal entre dos instantes de tiempo (DeVries & Frie, 1996) y ha sido descrito principalmente sobre la base de dos eventos fisiológicos opuestos muy importantes, el anabolismo y el catabolismo (von Bertalanffy, 1938). Aunque el modelo propuesto por éste último ha sido aceptado y usado ampliamente para explicar el crecimiento individual en elasmobranchios (Cailliet *et al.*, 2006), existen diversos modelos alternativos que podrían mostrar un mejor ajuste de los datos y expresar adecuadamente el crecimiento de una especie determinada (Ricker, 1979; Guzmán-Castellanos *et al.*, 2014), lo cual además permite comparaciones entre modelos y sus parámetros. Sin embargo, es recomendable ser precavido en la interpretación de los alcances de los modelos, pues a final de cuentas solo son un ajuste estadístico a un conjunto de datos, sin que eso necesariamente represente la biología de los individuos.

Existen solo dos estudios (Smith *et al.*, 2007; Galdámez-Olmedo, 2014) relacionados con los aspectos de la edad y el crecimiento de *D. diptera*, en ambos se utiliza el modelo de von Bertalanffy (1938) para estimar los parámetros de crecimiento de la especie. En dichos estudios, los valores de los parámetros de crecimiento calculados para hembras y machos están por encima de los estimados en el presente trabajo. Por ejemplo, Galdámez-Olmedo (2014) reporta para las hembras de *D. diptera* capturadas en el Puerto de Acajutla, Sonsonate, El Salvador, los siguientes parámetros de crecimiento: $LD^{\infty} = 117.07$ cm, $k = 0.082$ cm/año, $t_0 = -0.73$ cm y una edad máxima estimada de 83 años,

mientras que para los machos los parámetros reportados fueron $LD_{\infty} = 119.47$ cm, $k = 0.084$ cm/año, $t_0 = -0.59$ cm y una edad máxima estimada de 63 años. Por su lado, Smith *et al.* (2007) obtuvieron para hembras los siguientes parámetros: $AD_{\infty} = 92.4$ cm, $k = 0.05$ cm/año, $AD_0 = 31.4$ cm y una edad máxima estimada de 28 años, y para los machos: $AD_{\infty} = 62.2$ cm, $k = 0.10$ cm/año, $AD_0 = 31.3$ cm y una edad máxima estimada de 19 años. Las diferencias en los parámetros de crecimiento reportados por estos autores y los del presente trabajo pueden ser atribuidas a factores tales como la distribución latitudinal (en el caso de Galdámez-Olmedo), la disponibilidad de alimento en cada zona de estudio, lo cual ha sido sugerido puede causar cambios en el patrón de calcificación de las vértebras.

Se ha propuesto que en los modelos de crecimiento de dos parámetros se incluyan valores de la talla de nacimiento (AD_0), en sustitución de t_0 , debido a que se considera un parámetro sin sentido biológico (Fabens, 1965; Carlson *et al.*, 2003; Guzmán-Castellanos *et al.*, 2014). En el caso de *D. dipterura* estos modelos no se consideraron adecuados para los datos de talla-edad de las hembras, debido a que subestimaron los datos de AD_{∞} y sobreestimaron los valores de k , desde el punto de vista biológico, ya que el individuo más grande reportado fue de 100 cm AD y los valores de k de hembras 0.05 cm/año y de machos 0.10 cm/año (Smith *et al.*, 2007), son valores relativamente bajos con respecto a los estimados por los modelos.

Los modelos de tres parámetros (von Bertalanffy, Gompertz, Logístico) y logístico de dos parámetros describieron mejor los datos de talla edad de los machos. Considerando los valores ponderados de los parámetros, se observaron tallas asintóticas más altas y tasas de crecimiento ligeramente más bajas en las hembras que en los machos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Smith *et al.* (2007) en Bahía Magdalena. En cuanto a lo reportado por Galdámez-Olmedo (2014) sus estimaciones fueron hechas utilizando el largo del disco, por lo cual no es posible realizar una comparación directa con trabajos anteriores o con el presente.

Debido a que ningunos de los modelos candidatos con mejor ajuste a los datos obtuvo un peso de Akaike mayor al 90%, se sugiere que ningún modelo se puede considerar completamente ajustado (Katsanevakis, 2006). El modelo de VBGM de 3 parámetros fue uno de los modelos candidatos con mejor ajuste a los datos de hembras y machos, sin embargo, en ambos casos fue el que presentó el menor peso de Akaike y

sobrestimó el parámetro de AD^∞ (Tabla 6). Tomando en cuenta lo anterior y con fines de comparación con otros estudios, se eligió el modelo Logístico de tres parámetros como aquel que mejor describe los datos para ambos sexos, el cual define una talla de AD^∞ en ambos sexos muy similar a la talla máxima observada en este estudio, además de valores de k que muestran que los machos presentan tasas de crecimiento más rápidas que las hembras. Este resultado concuerda con lo reportado por Dale & Holland (2012) para *D. pastinaca*, quienes definieron que el modelo Logístico se ajustó mejor a los datos de AD de ambos sexos y valores de k más altos para los machos.

Este comportamiento observado en *D. dipterura*, donde las hembras alcanzan tallas asintóticas mayores y tasas de crecimiento menores que los machos, ha sido comúnmente reportado en los batoideos (Sulikowski *et al.*, 2003; Zattereri, 2010), específicamente en estudios con *Rhinobatos productus* (Timmons & Bray, 1997), *R. leucorhynchus* (Soler, 2006), *D. pastinaca* (Yeldan *et al.*, 2009; Girgin *et al.*, 2016), *D. dipterura* (Smith *et al.*, 2007; Galdámez-Olmedo, 2014), *D. lata* (Dale & Holland, 2012), Villavicencio-Garayzar, 2010; *Dipturus chilensis* (Zattereri, 2010). Recapitulando, se puede señalar que el patrón de crecimiento de *D. dipterura* es muy similar al de la mayoría de los batoideos, esto es, tasas de crecimiento bajas, y tallas y edades mayores en las hembras.

9. Conclusiones

Las diferentes combinaciones de variables para definir tratamientos específicos para cada uno de los diferentes tamaños de vértebras en el presente estudio, confirma la necesidad de evaluar una técnica específica para procesar las estructuras utilizadas en la estimación de la edad y crecimiento en peces batoideos.

La relación lineal entre el diámetro de la vértebra y la talla (ancho de disco) de los especímenes de *D. dipterura* utilizados en el presente estudio, confirman que las vértebras son una estructura adecuada para la estimación de la edad y crecimiento individual de la especie.

La periodicidad de formación de las marcas de crecimiento en vértebras de *D. dipterura* se sugiere es anual, con un valor bajo en los meses de julio a diciembre y un pico en los primeros meses del año.

El patrón de crecimiento de machos y hembras de *D. dipterura* es diferencial, las hembras alcanzan una talla máxima de 76.5 cm *AD* y una edad máxima de 15 años, mientras que los machos presentaron una talla máxima de 57 cm *AD* y una edad máxima de 7 años.

Derivado de los modelos de crecimiento utilizados para describir el crecimiento de *D. dipterura* se asume que la especie se caracteriza por presentar tasas de crecimiento bajas, anchos de disco asintóticos y edades máximas mayores en las hembras que en los machos, similar a las reportadas para la mayoría de los batoideos.

Literatura Citada

- Akaike, H. 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. 267-281 pp. *En*: Petrov B.N. & F. Csaki (Eds.). Second International Symposium on Information Theory. Akademiai Kiado, Budapest.
- Ainsley, S.M., D.A. Ebert & G.M. Cailliet. 2011. Age, growth, and maturity of the whitebrow skate, *Bathyraja mminispinosa*, from the eastern Bering Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 68: 1426-1434.
- Araya M. & L.A. Cubillos. 2006. Evidence of two-phase growth in elasmobranchs. *Environmental Biology of Fishes*, 77(3-4): 293-300.
- Arkhipkin A.I. & R. Roa-Ureta. 2005. Identification of ontogenetic growth models for squid. *Marine and Freshwater Research*, 56(4): 371-386.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, E.J. Jones, & G.M. Cailliet, 2000. The artisanal elasmobranch fishery of Baja California Norte (Gulf of California, Mexico). Abstract. 80th Annual Meeting of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists & 16th Annual Meeting of the American Elasmobranch Society, 14-20 June, Universidad Autónoma de Baja California Sur; La Paz, Baja California Sur, México.
- Bizzarro, J.J. 2005. Diet and ecomorphology of the dominant species in the Bahía Almejas ray fishery. M.S. Thesis. Moss Landing Marine Labs, CA, USA.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías, J. Tyminski, & R.E. Hueter. 2009. Temporal variation in the artisanal elasmobranch fishery of Sonora, Mexico. *Fisheries Research*, 97 (1): 103-117.
- Beamish, R.J. & 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.
- Beverton, R.J.H. & S.J. Holt. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. U.K. Ministry of Agriculture and Fisheries and Food. *Fishery Investigations*. (Ser. 2), 19, 533 pp.

- Blanco- Parra, P.M., F. Galván-Magaña & J.F. Márquez-Farías. 2008. Age and growth of the blue shark, *Prionace glauca* Linnaeus, 1758 in the Northwest coast of Mexico. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3):513-520.
- Borges, A.I., M.F. Carvalho & P. Santos. 2010. Computer Application for assistance in comparing growth curves of fish stock. International Statistical Ecology Conference 2010, University of Kent, 6-9.
- Burnham, K.P. & D.R. Anderson. 2002. *Model selection and multimodel inference*. Springer, New York, 454 p.
- Cailliet, G.M., L.K. Martin, D. Kusher, P. Wolf & B.A. Welden. 1983. Techniques for enhancing vertebral bands in age estimation of California elasmobranchs. 157–165 pp. *En*: Prince, E.D. & L.M. Pulos (Eds.). Proceedings International Workshop on Age Determination of Oceanic Pelagic Fishes: Tunas, Billfishes, Sharks, NOAA Technical Report NMFS 8.
- Cailliet, G.M. 1990. Elasmobranch age determination and verification: an updated review. 157–165 pp. *En*: Pratt, H.L., S.H Gruber & T. Taniuchi (Eds.). Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics and the Status of the Fisheries. NOAA Technical Report NMFS 90.
- Cailliet, G.M. & Goldman, K.J. 2004. Age determination and validation in Chondrichthyan fishes. pp. 399-447. *En*: Carrier J.C., J.A. Musick, M.R. Heithaus (Eds.). Biology of sharks and their relatives. CRC Press 666p.
- Cailliet, G.M., D. Wade, H. Smith, F. Mollet & 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., M.C. Annand & J.I. McMillan. 1995. Graphical and statistical methods for determining the consistency of age determinations. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124: 131–138.

- 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.
- Carlson J.K., E. Cortés & D. Bethea. 2003. Life history and population dynamics of the finetooth shark (*Carcharhinus isodon*) in the northeastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin*, 101:2081-292.
- Casey, J. & R.A. Myers. 1998. Near extinction of a large, widely distributed-fish. *Science* 281: 690– 692.
- Casselman, J.M. 1983. Age and growth assessment of fish from their calcified structures— techniques and tools. NOAA Technical Report 8, 179–188 pp. National Marine Fisheries Service, Washington, DC.
- 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.
- CONAPESCA-INP. 2004. Plan de Acción Nacional para el Manejo y Conservación de Tiburones, Rayas y Especies Afines en México. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca e Instituto Nacional de la Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Mazatlán, México, 80 pp.
- Cowley, P.D. 1997. Age and growth of the blue stingray *Dasyatis chrysonota chrysonota* from the South-Eastern Cape coast of South Africa. *South Africa Journal of Marine Science*, 18:31-38.
- Cruz-Vázquez R, G. Rodríguez-Domínguez, E. Alcántara-Razo & E.A. Aragón-Noriega. 2012. Estimation of individual growth parameters of the Cortes Geoduck *Panopea globosa* from the Central Gulf of California using a multi-model approach. *Journal of Shellfish Research*, 31(3): 725-732.
- Dale J.J. & K.N. Holland. 2012. Age, growth and maturity of the Brown stingray (*Dasyatis lata*) around Oahu, Hawaií. *Marine and Freshwater Research*, 63: 475-484.

- DeVries, D.R. & R.V. Frie. 1996. Determination of age and growth. *En*: Murphy, B.R. & D.W. Willis (Eds.). *Fisheries techniques*. American Fisheries Society, 483-512 pp.
- DOF. 2010. Acuerdo mediante el cual se da a conocer la actualización de la Carta Nacional Pesquera. Diario Oficial de la Federación. México. 2 de diciembre de 2010.
- Eschmeyer, W.N., E.S. Herald, & H. Hammann, 1983. *A field guide to Pacific coast fishes of North America*. Houghton Mifflin Company, Boston, USA.
- Fabens, A.J. 1965. Properties and fitting of the von Bertalanffy growth curve. *Growth*, 29: 265-289.
- Feder, H.M., C.H. Turner & C. Limbaugh. 1974. Observations on fishes associated with kelp beds in southern California. *California Fish and Game Fish Bulletin* 160.
- Flores, J.O., M. Rodríguez, M. Shimizu & T. Machii. 1995. Evaluation of demersal fishery resources of the Gulf of California using Mexican shrimp trawlers. *Journal of the National Fisheries University*, 44(1), 9–19.
- Frisk, M.G., T.J. Miller. & M.J. Fogarty. 2001. Estimation and analysis of biological parameters in elasmobranch fishes: a comparative life history study. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58: 969–981.
- Frisk, M.G. 2010. *Life history strategies of batoids*. *Sharks and their Relatives II. Biodiversity, adaptive physiology, and conservation*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 283–318.
- Galdámez–Olmedo, N.B. 2014. Aspectos biológicos y pesqueros de las principales especies de la familia Dasyatidae desembarcadas en el Puerto Artesanal de Acajutla, Sonsonate, el Salvador 2012-2013. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad de el Salvador Facultad Multidisciplinaria de Occidente departamento de Biología, 150 pp.
- Girgin H. & N. Basusta. 2016. Testing staining techniques to determine age and growth of *Dasyatis pastinaca* (Linnaeus, 1758) captured in Iskenderun Bay, northeastern Mediterranean, *Journal of Applied Ichthyology*, 1–7.

- Goldman, K.J., 2004. Age and growth of elasmobranchs fishes. *En*: Musick, J.A., Bonfil, R. (Eds.), Management Techniques for Elasmobranchs Fisheries. FAO. Roma, 76-102 pp.
- Goldman, K.J. 2005. Age and growth of elasmobranchs fishes. *En*: Musick, J.A. & R. Bonfil (Eds.). Management Techniques for Elasmobranchs Fisheries. FAO. Fisheries Technical Paper, 474: 76-102.
- Goldman, K.J., G. M. Cailliet, A. H. Andrews & L. J. Natanson. 2012. Assessing the age and growth of chondrichthyan fishes, 423–452. *En*: Carrier, J.C., J.A. Musick & M.R. Heithaus (Eds.). *Biology of Sharks and their relatives*. CRC Press LLC, USA.
- Gómez, L.S & D.F. Mojica. 2011. Familia Dasyatidae. *En*: Guía para la identificación de especies de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Bogotá, D.C.: Colombia. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible; Corporación para el Desarrollo Sostenible del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina – CORALINA; Gobernación de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Fundación SQUALUS, 2011, 282-283 p.
- Griffiths S.P., G.C. Fry, F.J. Manson & D.C. Lou. 2010. Age and growth of Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) in tropical and temperate waters of the central Indo-Pacific Ices Journal of Marine Science, 67(1): 125-134.
- Guzmán-Castellanos, A.B., Morales-Bojórquez E. & Balart. E.F. 2014. Estimación del crecimiento individual en elasmobranchios: la inferencia con modelos múltiples. *Hidrobiológica*, 24(2): 137–150.
- Guzmán-Castellanos, A.B. 2015. *Historia de vida de la raya chilena Urotrygon chilensis (Günther, 1872) en el Sureste del Pacífico mexicano*. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 145p.
- Hale, L.F. & C. Lowe. 2008. Age and growth of the round stingray *Urobatis halleri* at Seal Beach California. *Journal Fish Biology*, 73: 510-523.

- Hayashi, Y., 1976. Studies on the growth of the red tilefish in the East China Sea. II. Estimation of age and growth from otoliths reading. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 42(11): 1243–1250.
- Henningsen, A.D. 1996. Captive husbandry and bioenergetics of the spiny butterfly ray, *Gymnura altavela* (Linnaeus). *Zoo Biology*, 15:135–142.
- Hoening, J.M. & S.H. Gruber. 1990. Life-history patterns in the elasmobranchs: implications. 1–16 pp. *En: Pratt, H.L., S.H. Gruber & T. Taniuchi (Eds.). Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries. NOAA Technical Report NMFS 90.*
- Hoening, J.M., M.J. Morgan, & C.A. Brown. 1995. Analysing differences between two age determination methods by tests of symmetry. *Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences*, 52:364–368.
- Holden, M.J. 1974. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. 117–138 pp. *En: Jones, F.R. (Ed.). Sea Fisheries Research*, Halstead Press/John Wiley & Sons, New York.
- Holden, M.J. & D.F.S. Raitt. 1975. *Manual de Ciencia Pesquera. Parte 2. Métodos para Investigar los Recursos y sus Aplicaciones*. FAO. Roma, 211 p.
- Ismen, A. 2003. Age, growth, reproduction and food of common stingray (*Dasyatis pastinaca* L., 1758) in Iskenderun Bay, the eastern Mediterranean. *Fisheries Research*, 60:169–176.
- Kadri, H., S. Marouani, M.N. Bradai & A. Bouaïn. 2013. Age, growth and reproductive biology of the rough skate, *Raja radula* (Chondrichthyes: Rajidae), off the Gulf of Gabes (southern Tunisia, central Mediterranean). *Marine and Freshwater Research*, 64(6): 540–548.
- Katsanevakis S. 2006. Modelling fish growth: Model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. *Fisheries Research*, 81(2-3): 229-235.

- Katsanevakis S. & C.D. Maravelias. 2008. Modelling fish growth: Multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. *Fish and Fisheries*, 9(2): 178-187.
- Kimura D.K. 1980. Likelihood Methods for the von Bertalanffy growth curve. *Fishery Bulletin*; 77: 4.
- Ladino, F.O. 2014. Metaanálisis de la población del tiburón tollo (*Rhizoprionodon porosus*) en isla Fuerte Caribe Colombiano. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 49 pp.
- Lamilla, J., G. Pequeño & I. Kong. 1995. *Dasyatis brevis* (Garman, 1880) segunda especie de Dasyatidae registrada para Chile (Chondrichthyes, Myliobatiformes). *Estudios Oceanológicos* 14: 23–27.
- Lessa, R., F.M. Santana & Z.S. Almeida. 2009. Age and growth of the Brazilian sharpnose shark, *Rhizoprionodon lalandii* and Caribbean sharpnose shark, *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) on the northern coast of Brazil (Maranhão). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(4): 532-544.
- Márquez-Farías, F.J. 2002. The artisanal ray fishery in the Gulf of California: development, fisheries research, and management issues. IUCN/SSC Shark Specialist Group. *Shark News*, 14: 1–5.
- Márquez-Farías, J.F. & M.P. Blanco-Parra. 2006. Las rayas del Golfo de California. pp. 305-321. *En*: Instituto Nacional de la Pesca (Ed.). *Sustentabilidad y pesca responsable en México, evaluación y manejo*. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México.
- Martin, L.K. & G.M. Cailliet. 1988. Age and growth determination of the bat ray, *Myliobatis californica* Gill, in central California. *Copeia*, 3: 762–773.
- Matthew, P.M. & J. Druck. 1975. Potencial pesquero y estudios ecológicos de Bahía Magdalena III. Las existencias de rayas con especial interés a las ya aprovechadas. *Ciencias Marinas*, 2(1): 67-72.

- Mejía-Falla, P.A., E. Cortés, A.F. Navia & F. Zapata. 2014. Age and growth of the round stingray *Urotrygon rogersi*, a particularly fast-growing and short-lived elasmobranch. *Plos One*. 9:4.
- Meléndez E. 1997. Biología reproductiva de la raya lodera *Dasyatis brevis* (Garman, 1880), en la Bahía Almejas, B.C.S., México. Tesis de licenciatura Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Mercier L., J. Panfili, C. Paillon, A. Ndiaye, D. Mouillot & A.M. Darnaude. 2011. Otolith reading and multimodel inference for improved estimation of age and growth in the gilthead seabream *Sparus aurata* (L.). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 92(4): 534-545.
- Natanson, L.J. 1993. Effect of temperature on band deposition in the little skate, Vertebral growth zone deposition in angel sharks. *Copeia*, 4: 1133–1145.
- Natanson, L.J., J. Casey & N. Kohler. 1995. Age and Growth estimates for the dusky shark, *Carcharhinus obscurus*, in the Western North Atlantic Ocean. *Fishery Bulletin* 93: 116-126.
- Nishida, K., & K. Nakaya. 1990. Taxonomy of the genus *Dasyatis* (Elasmobranchii, Dasyatidae) from the north Pacific. *En: 'Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries'*. (Eds.) H.L. Pratt, S.H. Gruber and T. Taniuchi, 327–346 pp. NOAA Technical Report 90. National Marine Fisheries Service, Washington, DC.
- Neer, J.A. & G.M. Cailliet. 2001. Aspects of the life history of the Pacific electric ray, *Torpedo californica* (Ayers). *Copeia*, 3: 842–847.
- Neer, J.A. & 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.
- Nelson J.S. 2006. *Fishes of the world*. 4th ed. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, USA. 601 p.

- Pabón-Aldana, K.A. 2016. Edad y crecimiento de la raya tecolote, *Rhinoptera steindachneri* Evermann & Jenkins, 1891 en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 80 pp.
- Pérez-Rojas, J.G. 2013. Evaluación de técnicas para el estudio y determinación de edad de la raya eléctrica *Narcine leoparda* (Batoidea: Narcinidae) a partir de bandas vertebrales. Tesis de licenciatura Biología. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad del Valle. Cali.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bull. Fish. Res. Board Can., 191.
- Ricker, W.E. 1979. Growth rates and models. 677–743 pp. *En*: Hoar, W.S., D.J. Randall, J.R. Brett (Eds.). Fish Physiology: Bioenergetics and Growth. Academic Press, New York.
- Ridewood, W.G. 1921. On the calcification of the vertebral centra in sharks and rays. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 210: 311–407.
- Romine, J.G., R.D. Grubbs & J.A. Musick. 2006. Age and growth of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, in Hawaiian waters through vertebral analysis. *Environmental Biology of Fishes*, 77: 229-239.
- Salgado-Ugarte, H.I., J.L. Gómez & B. Peña. 2005. Métodos Actualizados para Análisis de Datos Biológico-Pesqueros. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, 240 pp.
- Santana-Hernández, H., E. Espino-Barr & J.J. Valdez-Flores. 2011. Distribución y abundancia relativa de la raya látigo *Pteroplatytrygon violacea* capturada incidentalmente en el Pacífico central mexicano. *Ciencia Pesquera*, 19(2): 13-22.
- Simpfendorfer, C.A. 1999. Mortality estimates and demographic analysis for the Australian sharpnose shark, *Rhizoprionodon taylori*, from northern Australia. *Fishery Bulletin*, 97: 978-986.

- Smith, J.W. & J.V. Merriener. 1987. Age and growth, movements and distribution of the Cownose Ray, *Rhinoptera bonasus* in Chesapeake Bay. *Estuaries*, 10 (2): 153-164.
- Smith, W.D. 2004. Life history aspects and population dynamics of a commercially exploited stingray, *Dasyatis dipterura*. M.Sc. Thesis, Moss Landing Marine Laboratories, California, USA.
- Smith, W.D. & J.J. Bizzarro. 2006. *Rhinoptera steindachneri*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. <www.iucnredlist.org>.
- Smith, W.D., G.M. Cailliet & E. Mariano-Meléndez. 2007. Maturity and growth characteristics of a commercially exploited stingray, *Dasyatis dipterura*. *Marine and Freshwater Research*, 58: 54–66.
- Smith, W.D., G.M. Cailliet & E. Cortés. 2008. Demography and elasticity of the diamond stingray, *Dasyatis dipterura*: parameter uncertainty and resilience to fishing pressure. *Marine and Freshwater Research*, 59: 575–586.
- Stevens, J.D. 1975. Vertebral rings as a means of age determination in the blue shark (*Prionace glauca*). *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 55:657–665.
- Stevens, J.D. 1999. Variable resilience to fishing pressure in two sharks: the significance of different ecological and life history parameters. *En: Musick, J.A. (Ed.). Life in the Slow Lane: Ecology and Conservation of Long-Lived Marine Animals*. American Fisheries Society, Bethesda, 11-15 pp.
- Stevens, J.D., R. Bonfil, N.K. Dulvy & 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. doi:10.1006/JMSC.2000.0724
- Soler M., 2006. Técnicas para la observación y conteo de bandas vertebrales y estimación de edad y crecimiento de la raya guitarra *Rhinobatos leucorhynchus* (pisces: elasmobranchii). Tesis: Santiago de Cali. Colombia. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Programa Académico de Biología Santiago de Cali, 57 p.

- Soriano, M., J. Moreau, J.M. Hoenig & D. Pauly. 1992. New functions for the analysis of 637 two-phase growth of juvenile and adult fishes, with application to Nile perch. *Transactions of the American Fisheries Society* 131, 486-493.
- Sulikowski, J.A., M.D. Morin, S.H. Suk & W.H. Howell. 2003. Age and growth estimates of the winter skate (*Leucoraja ocellata*) in the western Gulf of Maine. *Fishery Bulletin*, 101: 405–413.
- Sulikowski, J.A., J.R. Kneebone, S. Elzey, J. Jurek, P.D. Danley, W. Hunting Howell y P.C.W. Tsang. 2005. Age and growth estimates of the thorny skate (*Amblyraja radiata*) in the western Gulf of Marine. *Fishery Bulletin*, 103: 161-168.
- Sulikowski, J.A., A.M. Cicia, J.R. Kneebone, L.J. Natanson & P.C.W. Tsang. 2009. Age and size at sexual maturity of the smooth skate *Malacoraja senta* from the western Gulf of Maine. *Journal of Fish Biology*, 75 (10): 2832-2838.
- Timmons, M. & R.N. Bray. 1997. Age, growth, and sexual maturity of shovelnose guitarfish, *Rhinobatos productus* (Ayres). *Fishery Bulletin*, 95:349–359.
- Törnvall-Nazal, G. 2004. Periodicidad en la formación de los anillos en otolito y estimación de los parámetros de crecimiento de *Helicolenus lengerichi* (Norman, 1937) en la X Región, Chile. Tesis de Licenciatura Biólogo Marino. Facultad de Ciencias, Escuela de Biología Marina. Universidad Austral de Chile.
- Torres-Palacios, K. 2015. Edad y crecimiento de la raya Espinosa *Urotrygon aspidura* de la zona Centro-Sur del Pacífico Colombiano. Tesis de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 68 pp.
- Villavicencio-Garayzar, C. 2000, Taxonomía, Abundancia Estacional, Edad, Crecimiento, y Biología Reproductiva de *Narcine entemedor* Jordan & Starks (Chondrichthyes) en Bahía Almejas, B.C.S., México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León; Facultad de Ciencias Biológicas División de Estudios de Posgrado, Monterrey, Nuevo León, 138 p.

- Villavicencio C., C. Downton. & E. Meléndez. 1994. Tamaño y reproducción de la raya *Dasyatis longus* (pisces: Dasyatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, (2000), México [tesis] Universidad Autónoma de Baja California sur, Depto. de Biología Marina, La Paz, México, 20p.
- Villavicencio Garayzar, C.J. 1995. Distribución temporal y condición reproductiva de las rayas (Pisces: Batoidei), capturadas comercialmente en Bahía Almejas, B.C.S., México. Revista de Investigación Científica 6(1-2), 1-12.
- Von Bertalanffy L., 1938. A quantitative theory of organic growth. Human Biology. 10:181-213.
- Walker, P.A. & R.G. Hislop. 1998. Sensitive skates or resilient rays Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and the present day. ICES Journal of Marine Science, 55: 392-402.
- White, W.T., M.E. Platell & I.C. Potter. 2001. Relationship between reproductive biology and age composition and growth in *Urolophus lobatus* (Batoidea: Urolophidae). Marine Biology, 138 (1): 135-147.
- Yeldan, H., D. Avarsa & M. Manasirli. 2009. Age, growth and feeding of the common stingray (*Dasyatis pastinaca*, L., 1758) in the Cilician coastal basin, northeastern Mediterranean Sea. Journal of Applied Ichthyology, 25: 98-102.
- Zavatteri, A. 2010. Estudio de edad y crecimiento de la raya hocicuda *Dipturus chilensis* (Guichenot, 1848) en el Atlántico Suroccidental (34°-55° LS y 52°- 69° LW). Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Anexo 1. Valores de los análisis cualitativos (porcentaje de vértebras leídas, nivel de visibilidad), de precisión (porcentaje de acuerdo entre lectores-PA, porcentaje de error promedio-PEP y coeficiente de variación-CV) y de sesgo (prueba de simetría de Bowker- p) para los tratamientos aplicados a las vértebras grandes, medianas y pequeñas de *Dasyatis dipterura*. NA: No aplica

Tamaño	Tratamiento	Tiempo	PA (%)	PEP	CV	% Leídas	% NV Bueno	Valor de p
Grandes	Sin tinción	NA	25.6	9.835	13.909	97.5	15.0	0.848
	Agua	NA	20.0	7.536	10.658	100.0	5.0	0.136
	Marrón de Bismarck	10'	63.6	5.035	7.120	91.7	41.7	0.406
		5'	45.5	13.866	19.610	91.7	50.0	0.429
		7'	54.5	3.909	5.528	91.7	41.7	0.416
	Azul de metileno	3'	54.5	13.827	19.555	91.7	0.0	0.423
		5'	36.4	15.024	21.247	91.7	0.0	0.433
		7'	45.5	14.468	20.461	91.7	0.0	0.537
	Cristal violeta	10'	16.7	6.889	9.742	100.0	0.0	0.139
		5'	16.7	6.889	9.742	100.0	0.0	0.169
		7'	8.3	7.879	11.142	100.0	8.3	0.225
	Rojo de alizarina	3'	63.6	3.236	4.576	91.7	8.3	0.406
		5'	50.0	6.385	9.030	100.0	0.0	0.423
		7'	50.0	4.905	6.937	100.0	0.0	0.423

Continuación Anexo 1. Valores de los análisis cualitativos (porcentaje vértebras leídas, nivel de visibilidad), de precisión (porcentaje de acuerdo entre lectores-PA, porcentaje de error promedio-PEP y coeficiente de variación-CV) y de sesgo (prueba de simetría de Bowker- p) para los tratamientos aplicados a las vértebras grandes, medianas y pequeñas de *Dasyatis dipterura*. NA: No aplica.

Tamaño	Tratamiento	Tiempo	PA (%)	PEP	CV	% Leídas	% NV Bueno	Valor de p	
Medianas	Sin tinción	NA	71.4	3.397	4.804	100.0	20.0	0.544	
	Agua	NA	58.6	4.441	6.280	100	13.8	0.083	
		3'	66.7	4.135	5.847	100.0	6.7	0.287	
	Azul de metileno	5'	66.7	4.135	5.847	100.0	13.3	0.287	
		7'	60.0	4.869	6.886	100.0	0.0	0.406	
		10'	66.7	4.027	5.695	100.0	13.3	0.801	
	Cristal violeta	15'	66.7	3.300	4.666	100.0	53.3	0.223	
		20'	53.3	4.646	6.571	100.0	40.0	0.848	
		3'	46.2	18.098	25.595	86.7	20.0	0.387	
	Rojo de alizarina	5'	75.0	22.299	31.536	80.0	13.3	0.423	
		7'	64.3	10.313	14.584	93.3	6.7	0.406	
	Pequeñas	Sin tinción	NA	31.0	25.480	36.657	89.4	0.0	0.293
		Agua	NA	42.3	30.248	42.777	76.5	0.0	0.202
			1'	42.9	12.982	18.359	100.0	7.1	0.504
Marrón de Bismarck		3'	3'	57.1	11.395	16.114	100.0	14.3	0.343
		5'	50.0	14.541	20.564	100.0	7.1	0.136	
		3'	50.0	31.587	44.671	80.0	0.0	0.238	
Azul de metileno		5'	5'	25.0	38.175	53.987	80.0	0.0	0.125
		7'	7'	25.0	30.765	43.509	80.0	0.0	0.429
		10'	10'	33.3	15.450	21.849	100.0	6.7	0.238
Cristal violeta		5'	5'	46.7	11.167	15.792	100.0	6.7	0.306
		7'	7'	50.0	15.153	21.430	93.3	6.7	0.238
		3'	3'	27.3	34.949	49.425	78.6	0.0	0.537
Rojo de alizarina		5'	5'	36.4	32.834	46.435	78.6	0.0	0.540
		7'	7'	40.0	40.136	56.761	71.4	0.0	0.269