

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

Bulletin — Boletín  
Vol. VI, No. 8

## **LIVE-BOX EXPERIMENTS WITH ANCHOVETAS, *CETENGRaulIS MYSTICETUS*, IN THE GULF OF PANAMA**

## **EXPERIMENTOS EN VIVEROS CON ANCHOVETAS, *CETENGRaulIS MYSTICETUS*, EN EL GOLFO DE PANAMA**

by — por  
**WILLIAM H. BAYLIFF AND/Y EDWARD F. KLIMA**

La Jolla, California  
1962

**CONTENTS — INDICE**  
**ENGLISH VERSION — VERSION EN INGLES**

	Page
SUMMARY.....	335
INTRODUCTION.....	336
REVIEW OF PERTINENT LITERATURE.....	337
METHODS AND MATERIALS.....	338
External tags.....	341
Internal tags.....	342
Dyes and pigments.....	343
Anesthetics.....	343
Antibiotics.....	343
OBSERVATIONS ON THE TAGS, MARKS, ANESTHETICS, AND ANTIBIOTICS.....	344
External tags.....	344
Internal tags.....	345
Dyes and pigments.....	345
Anesthetics.....	347
Antibiotics.....	349
RESULTS.....	350
Survival.....	350
1958.....	352
1959.....	352
1960.....	353
Mortality of the fish in the live boxes from extraneous causes.....	356
Evaluation and interpretation of the validity of the survival data.....	358
Retention of the tags and marks.....	360
1958.....	362
1959.....	362
1960.....	365
FIGURES — FIGURAS.....	367
TABLES — TABLAS.....	370

**SPANISH VERSION — VERSION EN ESPAÑOL**

	Página
RESUMEN.....	405
INTRODUCCION.....	406
REVISION DE LA LITERATURA PERTINENTE.....	407
METODOS Y MATERIAL.....	409
Marcas externas.....	412
Marcas internas.....	413
Colorantes y pigmentos.....	414
Anestésicos.....	414
Antibióticos.....	414
OBSERVACIONES SOBRE LAS MARCAS, ANESTESICOS Y ANTIBIOTICOS.....	415
Marcas externas.....	415
Marcas internas.....	416
Colorantes y pigmentos.....	417
Anestésicos.....	419
Antibióticos.....	421
RESULTADOS.....	422
Supervivencia.....	422
1958.....	424
1959.....	424
1960.....	426
Mortalidad de los peces en los viveros ocasionada por causas extrañas.....	429
Evaluación e interpretación de la validez de los datos de la supervivencia.....	432
Retención de las marcas.....	433
1958.....	436
1959.....	436
1960.....	439
LITERATURE CITED — BIBLIOGRAFIA.....	441

**LIVE-BOX EXPERIMENTS WITH ANCHOVETAS.**

*CETENGRAULIS MYSTICETUS,*  
**IN THE GULF OF PANAMA**

by

**William H. Bayliff and Edward F. Klima**

**SUMMARY**

Extensive live-box experiments were conducted during 1958, 1959, and 1960 to test the efficacy of various tags and marks for use with anchovetas, and to test the effects of the use of anesthetics and antibiotics with the tagging. A total of 12,767 fish was involved in 72 experiments during the three years. Daily records of the mortalities and shedding were kept. Slightly over 7 months was the longest period of time any of the experiments was maintained.

A large variety of external tags was tested, but all of them were rapidly shed. The circum-vertebral tag, an original design, was retained better than any of the others, but was the only external tag that caused mortalities.

Metal internal tags were used with considerable success. They did not cause mortalities to fish which had been held in the live boxes a week before tagging, but fish tagged the day they were caught experienced somewhat higher mortalities than control fish. Shedding occurred during the first 2 or 3 weeks after tagging, and then ceased. Among fish that had survived at least a month in captivity, approximately 35 per cent had shed their tags.

Three aniline dyes, trypan blue, trypan red, and fast green FCF, were injected beneath the skin of the fish. All of the dyes apparently caused some mortalities, and all of them faded, but none were entirely lost.

Three inert pigments, liquid latex, ferric oxide, and cadmium sulfide were also injected beneath the skin. None of them caused mortalities, but all were rapidly ejected through the skin of the fish.

Three fluorescin dyes, Rhodamine 6 GDN extra, Brilliant acid yellow 8G, and Thiazine red R, were also injected beneath the skin. The first caused heavy mortalities. The first and second, which are insoluble in water, were rapidly ejected through the skin, while the third, which is water-soluble, was retained. None of the dyes was detectable in a testing device after being injected into dead fish, the skin of the fish apparently preventing the passage of ultraviolet and/or fluorescent radiation.

Four anesthetics, quinaldine, MS 222, Dormison, and tertiary amyl alcohol, were tested. Quinaldine apparently caused some mortalities and, in addition, proved to be chemically unstable. Dormison and tertiary amyl alcohol also seemed to cause some mortalities and, furthermore, anesthetized the fish too slowly for practical field experiments. MS 222

at a concentration of 0.4 gram per gallon also may have caused some mortalities, but at 0.2 gram per gallon apparently worked satisfactorily. Tagging of the fish was considerably facilitated by anesthesia.

It had been observed that in the fish tagged with internal tags the slit where the tag had been inserted often became infected and enlarged, which apparently contributed to the shedding of the tags and, in addition, may have caused some mortalities. Therefore terramycin and penicillin were used in an effort to prevent such infection. The use of antibiotics did not decrease the mortalities of the tagged fish, but it may have reduced the shedding of the tags by about 25 per cent.

### INTRODUCTION

The need to conduct tagging experiments with anchovetas, *Cetengraulis mysticetus*, and other important bait species has been recognized since the start of the Inter-American Tropical Tuna Commission's investigations in 1951. To test various tags aquarium experiments using sardines, *Sardinops caerulea*, were conducted in 1951 and 1952 at Scripps Institution of Oceanography. It was concluded that a streamer tag with stainless steel or tantalum wire affixed well anterior to the dorsal fin would be suitable for anchovetas (Schaefer, 1953).

In 1953, 1,816 anchovetas were tagged with streamer tags at Guaymas, Mexico and in the Gulf of Panama. However only five recoveries were made, all within 2 weeks after tagging. About 1,000 additional anchovetas were tagged with streamer tags and a similar number with toggle tags, the fish being retained in the bait wells of a tuna clipper for observation. A large number of the streamer tags were lost within a few days, while no shedding of the toggle tags was observed (Schaefer, 1954).

In 1954, 1955, 1956, and 1957, 82,989 anchovetas were tagged with toggle tags in the Gulf of Panama, but only 16 were recovered. Live-box experiments were conducted in 1955, 1956, and 1957 to test the retention of the tags and to obtain estimates of the mortalities caused by tagging. A series of unfortunate accidents terminated all the experiments prematurely; however they lasted sufficiently long to show that a considerable portion of the tags was shed within a short time after tagging (Schaefer, 1955, 1958).

In 1958, 1959, and 1960 successful live-box experiments were accomplished, testing a variety of tags, marks, and techniques of handling the fish. A total of 12,767 fish was involved in 72 experiments during the three years. This report is an account of those experiments.

Acknowledgment is extended to the following members of the scientific staff of the Inter-American Tropical Tuna Commission who rendered valuable advice and assistance to the program: Dr. Milner B. Schaefer, Director of Investigations, Messrs. Gerald V. Howard (now with the U. S. Bureau of Commercial Fisheries), Clifford L. Peterson, Izadore Barrett, and Enrique J. Guardia. Mr. Barrett was in charge of

the 1958 experiments. Messrs. Rito Delgado and Ovidio Delgado performed effectively their duties in capturing the fish for the experiments and in the daily maintenance of the live boxes. The following persons donated tags for the experiments: Mr. Einar Lea, Biological Laboratory, Oslo, Norway, hydrostatic tags; Mr. R. A. McKenzie, Fisheries Research Board of Canada, Saint Andrews, New Brunswick, opercle tags; Mr. R. Walter Williams, Washington Department of Fisheries, Seattle, large internal tags; Dr. F. H. C. Taylor, Fisheries Research Board of Canada, Nanaimo, British Columbia, small internal tags. Advice on various phases of the work was furnished by the following individuals: Mr. T. J. Costello, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Coral Gables, Florida, aniline dyes; Mr. Fred C. June, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Beaufort, North Carolina, fluorescin dyes; Dr. William N. McFarland, Institute of Marine Science, University of Texas, Port Aransas, Texas, Dr. Norman J. Wilimovsky, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Juneau, Alaska, and Mr. Robert W. Saalfeld, Great Lakes Fishery Commission, Ann Arbor, Michigan, anesthetics; Dr. Werner P. Heuschele, San Diego Zoo and Mr. Brian J. Earp, Washington Department of Fisheries, Seattle, antibiotics. Mr. Richard H. vanHaagen, Fisheries Instrumentation Laboratory, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Seattle kindly furnished a device for detecting the presence of fluorescin dyes.

#### REVIEW OF PERTINENT LITERATURE

Only a few holding experiments have been attempted with fish similar to anchovetas to determine the efficacy of various tags from the standpoints of mortality and shedding. Rounsefell and Dahlgren (1933) conducted 12 experiments with Pacific herring, *Clupea pallasi*, testing the effects of 5 kinds of tags over periods of 46 to 52 days. The fish were tagged with metal opercle tags, metal caudal clip tags, silk ribbons passed through the operculum, silk ribbons passed through the body, and metal internal tags. Of 25 fish tagged with internal tags, 2 died and 2 others shed their tags during the 46 days of confinement. The fish tagged with opercle tags and the control fish exhibited mortality and shedding rates similar to those of the fish tagged with internal tags. The caudal tags were inferior to the internal and opercle tags, and both types of ribbon tags caused heavy mortalities and were shed rapidly. Observations of the fish tagged with internal tags showed that the incision where the tag was inserted healed completely within 9 days, reducing or eliminating the chances of further shedding. Field experiments with opercle and internal tags later showed much higher recoveries for the latter.

Janssen and Aplin (1945) conducted live-box experiments with California sardines, *Sardinops caerulea*, employing fish tagged with various types of internal tags. The tags were found to cause a considerable number of mortalities and also to be shed to some extent. The shedding occurred chiefly during the first 2 months after tagging, but some fish continued to shed their tags to the end of the experiments, which lasted up to 5 months.

Sette (1950) conducted experiments with Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, confined in a large outdoor pool. He used fish tagged with celluloid bands, celluloid rings, and rubber bands, all around the caudal peduncle, and celluloid internal tags. The internal tags did not adversely affect the fish either by causing mortalities or impairing the growth. The other tags were considerably less satisfactory, severely chafing the caudal peduncle. No evaluation of shedding of the internal tags was made, but a few of the celluloid bands were observed to have been lost.

Fridriksson and Aasen (1950), working with Atlantic herring, *Clupea harengus*, kept 80 fish tagged with internal tags and 80 control fish in a wooden tank for 36 hours. At the end of this period 25 per cent of the tagged fish and 20 per cent of the control fish had died and four others had shed their tags. Another experiment involved 912 tagged fish and an equal number of control fish, which were confined in a land seine for 13 days. During this period 23 of the tagged fish and 21 of the control fish died. No shedding of the tags was noted among 99 of the tagged fish which survived to the end of the experiments and were dissected at that time. In another experiment only 1 out of 103 fish lost its tag after 2 weeks.

Wood, Parrish, and McPherson (1955) conducted a 200-day aquarium test of toggle tags with Atlantic herring, *Clupea harengus*. Of 10 tagged fish, 2 died and 2 others shed their tags, while 1 of the 10 control fish died.

Hourston (1959) conducted six experiments "in various live tanks and pounds" with juvenile Pacific herring, *Clupea pallasi*. Of a total of 390 fish tagged with internal tags, none survived, while the mortalities of the control fish varied from 8 to 51 per cent.

#### METHODS AND MATERIALS

The fish used in the present investigation were all captured at Ensenada Vique, Panamá Viejo, Bahía Chorrera, or Isla Verde. A cast net was generally used for collecting them, but on May 11, 1959 a purse-seine boat donated about 1,200 fish. The usual procedure was to tow a log canoe, modified for holding and transporting live fish, to the fishing area with the Commission's research vessel, *Saint Jude*. When signs of fish were sighted the log canoe was taken, with the aid of an outboard motor, into shallow water where fishing was conducted. After sufficient fish were obtained the log canoe was towed to Isla Taboga.

At Isla Taboga the fish were generally transferred from the canoe to the live boxes and held there until tagging. In some instances in 1958, however, the fish were tagged immediately upon arrival at Isla Taboga, in which cases they were not transferred to the live boxes until they had been tagged. Also in that year, in a few instances, there was no room in the live boxes, so the fish were held overnight in the log canoe before tagging. In 1960, for the experiments in which the fish were tagged the same day they were captured, they were transferred from the log canoe

to floating holding pens of aluminum tubing and netting before tagging. In 1959 catching enough fish for tagging took 2 or 3 days, so care was taken to mix the fish caught on different days together in the live boxes so that any possible differential mortality of the different groups of fish would not confuse the results of the experiments.

In 1958 two live boxes were used, each 8 feet long, 4 feet wide, and 4 feet deep, and each consisting of three equal sections. In 1959 and 1960 six boxes of the same dimensions were used, each consisting of two equal sections instead of three. In those two years the boxes were bolted together in pairs. They were constructed of  $\frac{1}{2}$ -inch marine plywood and 2- by 4-inch lumber with 12-inch square windows cut in the sides and ends at the waterline and screened with hardware cloth. The covers were of hardware cloth, and each section was equipped with a padlock. Empty 55-gallon oil drums chained to the sides furnished buoyancy, so that only about two thirds of each box was submerged. The boxes were anchored in about 15 meters of water in the harbor at the village of Taboga.

During the tagging and marking all fish to be used were usually removed from the live boxes with a cast net or dip net and put into the live well of the log canoe. Three or four fish at a time were dipped out of the well and placed into a shallow pan of water near the tagger. The tagging and marking took place in the pan, under water as much as possible, and as soon as each fish was tagged or marked it was thrown into a section of one of the live boxes. The control fish were dipped out of the canoe, counted, and thrown into the live boxes.

One group of fish was anesthetized with quinaldine before being tagged. For this purpose two shallow plastic pans, each containing about  $2\frac{1}{2}$  liters of quinaldine solution, were set side by side on the seat of the log canoe. About eight fish were put into each pan for tagging. After all the fish from one pan had been tagged and thrown into the proper section, more fish were put into it and tagging was conducted from the other pan. It took about 4 minutes to tag eight fish, so each fish was immersed in quinaldine solution for about 4 to 8 minutes before being tagged. Fresh solutions of quinaldine were substituted after 100 fish had been tagged.

One group of control fish was anesthetized with quinaldine. These were held in groups of 20 in about  $2\frac{1}{2}$  liters of quinaldine solution for about 2 minutes before being thrown into the proper section of one of the live boxes.

In 1959 one group of control fish was anesthetized with MS 222. The same procedure was used as with the control fish anesthetized with quinaldine, but the fish were left in the solution 5 minutes instead of 2 and the solution was changed after 60 fish had been anesthetized.

In 1958 and 1959 all the fish for a particular experiment were tagged or marked and put into the proper section of the live boxes before the next experiment was begun. In 1960, however, all the fish for the

experiments initiated on the same dates were tagged concurrently in groups of 10, as described below.

The 1960 experiments with internal tags were conducted aboard the *Saint Jude*. All of these fish were tagged the same day they were caught. The boat was tied alongside the live boxes, and the fish were held on the other side of the boat in a floating holding pen of aluminum tubing and netting. For the first two groups of experiments (May 11-13 and May 27-29) a series of eight numbered, plastic, 2½-gallon buckets was used. The first contained MS 222, terramycin, and 2 gallons of sea water; the second MS 222 and sea water; the third and fourth Dormison and sea water with and without terramycin; the fifth and sixth tertiary amyl alcohol and sea water with and without terramycin; and the seventh and eighth plain sea water with and without terramycin. (MS 222, Dormison, and tertiary amyl alcohol are anesthetics.) The fish were introduced into the buckets 10 at a time with a dip net, tagged, and transferred in another bucket to the proper sections of the live boxes. These sections had been previously chosen by drawing numbers out of a hat. The fish were subjected to the different treatments in serial order in groups of 10, as indicated in the following table, until the supply of fish was exhausted. The two taggers changed buckets at intervals of about 50 fish per section, so that each experiment contained fish tagged by both taggers.

	Bucket	Anesthetic	Antibiotic	Tag	Section
Tagger	1	MS 222	yes	yes	10
	2	MS 222	no	yes	11
				no	7
	3	Dormison	yes	yes	1
	4	Dormison	no	yes	12
				no	2
Tagger	5	amyl alcohol	yes	yes	9
	6	amyl alcohol	no	yes	8
				no	3
	7	none	yes	yes	5
	8	none	no	yes	6
				no	4

The tagging procedures for the third group of experiments (June 30) were the same as those described above except that six buckets were used for the six experiments, so that equal numbers of fish passed through each bucket.

The tagging took place at small tables, each with a recessed 2-gallon plastic pan full of sea water, a recessed plastic bowl containing tags, and

a wooden block holding a vial of antibiotics for dipping the scalpel blades. The fish were removed from the buckets one at a time, tagged in the pan, and released there. When the 10 fish from the bucket were all tagged they were transferred to a bucket of fresh sea water and transported to the proper section of the live boxes. The water in the pans was frequently changed. Two plastic bowls of tags were available for each tagger, one containing antibiotics and the other none, these being alternated in accordance with whether or not the fish were to receive antibiotic treatment. The water in the treatment buckets was not changed during the day, but it was agitated at frequent intervals with an electric agitating device.

During all the holding experiments a field assistant remained at Isla Taboga in charge of the live boxes. In 1958 and 1959 the fish were fed finely-ground corn meal. They seemed actively to ingest this material, but nevertheless became extremely emaciated after several months of confinement. In 1960 the fish were not fed. Each day the dead fish and the tags that had been shed were removed from the floor of each section and the figures tabulated in a notebook. In 1958 and 1959 the numbers of dead fish which had retained their external tags and the numbers which had lost them were also recorded. In 1958 and early 1959 there was no way to recover the internal tags that had been shed. Beginning in July, 1959 a small magnet was dragged daily along the floor of each of the sections where fish with internal tags had been put in order to recover the shed tags. Also beginning in July, the fish that died in the sections with internal tag experiments were preserved in separate jars so that they could be examined to see if they had retained their tags. In 1960 all the dead fish were preserved in separate jars for later examination.

#### **External tags**

The toggle tags were similar to that described by Wood, Parrish, and McPherson (1955: Figures 2A, 2C, and 4). Monofilament nylon, braided nylon, or phono pick-up arm cable, a fine, plastic-covered wire which henceforth will be referred to as "spaghetti," were used to attach the numbered portions to the wires. These tags were affixed below the dorsal fin of the fish, except in Experiment 2a, where they were attached anterior to the dorsal fin.

The spaghetti streamer tag, devised by Mr. Barrett, consisted of a piece of spaghetti strung through a piece of numbered plastic sheeting and tied at one end to prevent the loss of the numbered portion. The other end was passed through the body of the fish below the dorsal fin and also tied.

The spaghetti loop tag was similar to Types B, C, E, F, and G described and illustrated by Wilson (1953), except that the number was printed on a piece of plastic sheeting instead of on or in the spaghetti. The spaghetti was passed through the body of the fish below the dorsal fin, and then the two ends were tied together.

The hydrostatic tag is described and illustrated by Anonymous (1953: 276). The tags were affixed below the dorsal fin in the same manner as Petersen tags.

The Atkins tag was similar to that first described by Anonymous (1876) and illustrated by Rounsefell and Kask (1945: Figure 1, Type 6) and also to the streamer tag mentioned by Schaefer (1953, 1954). They were attached below the dorsal fin, and the wire twisted as shown in Rounsefell and Kask's figure.

The opercle tag and its method of application are described and illustrated by McKenzie (1950).

The clip-on tag was similar to that described and illustrated by Letaconnoux (1951: Figure 2B). The tags were affixed below the dorsal fin near its posterior end.

The disk tag, obtained from the Floy Tag and Manufacturing Company, Seattle, was made of nylon. Each tag consisted of two disks, one with a hole in it and the other with a barbed shaft attached to it. The barbs were inclined in such a way as to make it comparatively easy to pass the shaft through the fish and through the hole in the other disk, but nearly impossible to accomplish the reverse. These tags were attached below the dorsal fin.

The dart tag, also from the Floy Tag and Manufacturing Company, was similar to that described by Waldron and Yamashita (1958), but it was smaller and had a double instead of a single barb. These tags were affixed below the dorsal fin.

The circum-vertebral tag was made of braided nylon, with a numbered portion of plastic sheeting. These tags were attached through the body about  $\frac{1}{2}$  inch posterior to the anus, with the line passing through the body both dorsal and ventral to the vertebral column about  $\frac{1}{8}$  inch below the dorsal surface of the fish and about  $\frac{1}{8}$  inch above the base of the anal fin. After the line was passed through the fish's body the two ends were tied together.

#### Internal tags

The "large" internal tags were 0.062 by 5/32 by  $\frac{3}{4}$  inch, while the "small" ones were 0.05 by 3 by 13 millimeters. They were all nickel-plated steel, had rounded ends, and had been "tumbled" to reduce the sharp edges. In 1958 they were inserted through a slit cut in the left side of the fish below the medio-lateral line and about  $\frac{3}{8}$  inch anterior to the anus. The slit was made with half of a pair of scissors with the point ground off so as to form a sharp, spadelike cutting edge about  $\frac{1}{8}$  inch wide. The tags were inserted into the body of the fish in an anterior direction, attempting to make the tag rest along the side of the body wall. Only small internal tags were employed in 1959 and 1960. A scalpel with a Number 11 blade was used to make the slits for inserting the tags in those years. The slits were made dorsal to the insertion of the

ventral fins about  $\frac{3}{8}$  inch above the mid-ventral line, and the tags were pushed posteriorly or anteriorly through the slits. Slight bending of the fish facilitated the insertion of the tags. In 1960 all the tags were inserted anteriorly.

#### Dyes and pigments

The aniline dyes were obtained from Allied Chemical Corporation, New York City. They were injected, in the form 1-per cent solutions, near the base of the anal fin with tuberculin syringes and hypodermic needles. About  $\frac{1}{4}$  milliliter of the solution was injected into each fish.

The liquid latex, after being diluted with an equal quantity of distilled water, was injected near the base of the dorsal fin with a veterinary syringe and hypodermic needle. About  $\frac{1}{4}$  to  $\frac{1}{2}$  milliliter of the mixture was injected into each fish.

The ferric oxide and cadmium sulfide were mixed with sea water to form a thin paste which was injected into the fish with the same equipment used with the liquid latex. Half of each group of fish was injected near the base of the dorsal fin and half near the base of the anal fin. About  $\frac{1}{4}$  to  $\frac{1}{2}$  milliliter of the mixture was injected into each fish.

The fluorescein dyes were also obtained from Allied Chemical Corporation. They were injected, in the form of 3-per cent solutions, with tuberculin syringes and hypodermic needles, the Brilliant acid yellow 8G being injected near the base of the dorsal fin and the Thiazine red R and Rhodamine 6 GDN extra near the base of the anal fin. About  $\frac{1}{4}$  milliliter of the mixture was injected into each fish.

#### Anesthetics

The anesthetic solutions were prepared the day before use or the day of use. Each anesthetic was first dissolved in a small quantity of distilled water, and these solutions were in turn dissolved in sea water immediately before use. In 1959 quinaldine (2-methylquinoline) was used at a concentration of 10 parts per million and MS 222 (tricaine methanesulfonate) at 0.2 gram per gallon. In 1960 0.4 gram per gallon of MS 222 was used for the first two groups of experiments and 0.2 gram per gallon for the third. Dormison (methyl pentynol) was used at a concentration of 6 milliliters per gallon and tertiary amyl alcohol at 10 milliliters per gallon.

#### Antibiotics

The antibiotics were administered in three ways, in the buckets of sea water where the fish were held before tagging, on the tags, and on the scalpel blades. Animal formula terramycin in  $\frac{1}{2}$ -ounce tubes of water-soluble liquid and powdered procaine penicillin G were used. One milliliter of terramycin was used for each gallon of sea water in the buckets. A small amount of terramycin was added to 300,000 units of penicillin in a plastic bowl for each 400 tags. Only enough terramycin to cover the tags was added, so that the antibiotic mixture was exhausted

at about the same time as the tags. Each vial for dipping the scalpels contained 150,000 units of penicillin and enough terramycin to make about 1½ milliliters of antibiotic mixture, enough to immerse the portion of the scalpel blade that penetrated the fish.

For the third group of experiments (June 30) the tags to be used on the fish which were to receive antibiotic treatment were left in 70 per cent ethyl alcohol for about an hour before use, and then thoroughly dried in the air and with paper towels.

#### OBSERVATIONS ON THE TAGS, MARKS, ANESTHETICS, AND ANTIBIOTICS

##### External tags

Seven of the types of external tags, toggle, spaghetti streamer, spaghetti loop, hydrostatic, Atkins, clip-on, and disk were essentially similar in that they were attached through the flesh of the dorsal side of the fish near the base of the dorsal fin. All of these tags were shed through the dorsal surface of the body when the holes through which they were inserted became sufficiently enlarged, after a short period of time. After the tags had been shed the wounds healed rapidly, leaving scars that were barely discernible. The disk tags were difficult to apply because the shaft was so flexible that it was difficult to pierce the skin and flesh of the fish, and the barbs were so stiff that it was hard to pass the disk past them. After 16 fish had been tagged the effort was abandoned. Perhaps modifications could be made to correct these faults, however.

The dart tags, though somewhat different in principle from the above-mentioned tags, were also shed by enlargement of the holes where the tags were inserted.

Opercle tags, originally designed for smelt (McKenzie, 1950), have also been used for herring (McKenzie and Skud, 1958). Considerable shedding had been encountered with the smelt, but not nearly so much as was subsequently found with the anchovetas. The holes in the operculum became enlarged and the tags fell out, or sometimes the tags worked their way through the posterior edge of the operculum. After the tags were shed the operculum rapidly healed, leaving no scars.

The circum-vertebral tags were basically different from those that pierced the fishes' bodies only through the back. The natural movements of the fish caused the latter tags to wear away at the tissue near the dorsal surface, so that the tags were soon lost. However it was thought that the natural movements of the fish tagged with circum-vertebral tags would cause the wear to occur mostly at the tissue near the vertebral column instead of that near the dorsal and ventral surfaces. Thus the tags should be retained for longer periods of time than the other external tags, but might kill the fish by wearing down to the vertebral column. Both of these possibilities turned out to be at least partially true. However the tags were not retained long enough to be of much value and, as

might be expected, the mortalities were heavier among those that did not manage to shed the tags rather rapidly.

#### Internal tags

Metal internal tags were first used by Rounsefell and Dahlgren (1933), and since that time have been used widely for a variety of herring-like fishes.

In 1958, as noted above, the method of Hourston (1959), using half a pair of scissors to make the incision, was employed. Almost all the fish died within a few days after tagging. Hourston experienced similar results; out of 390 fish tagged and held "in various live tanks and pounds" none survived. Modification of the technique in 1959, as previously described, produced decided improvement in the survival of the fish.

Experiments were conducted on May 20, 1959 to determine the best location for the slit for insertion of the tags. It was desired to place the slit near the posterior end of the body cavity in order to insure that the tag would make contact with no internal organs other than the intestine, but not so far back that it would be too difficult to insert the tag, these being inserted posteriorly in that experiment. It was found that when the slit was placed above the insertion of the ventral fins the above criteria were met and the bleeding was not severe.

Data presented later in this report indicate that most of the shedding took place within 2 or 3 weeks after tagging. The wounds appeared to heal in about a week, if they did not become infected or enlarged. It is probable that the shedding was usually the result of infected, enlarged wounds, normal wounds being so small that loss of the tag would be unlikely.

Some of the tagged fish that died several weeks or months after tagging were found to have the tag lodged among the intestines. Therefore this occurrence is probably not necessarily fatal, or the fish would have died shortly after tagging, but it should be avoided if possible.

On August 17, 1959 two groups of fish were tagged. In each case the slit was made above the insertion of the ventral fins, yet in the second group (Experiment 9c) the bleeding was much more severe than in the first group (Experiment 10c). There is no indication, however, that the bleeding was a cause of mortality since the second group survived better than the first.

#### Dyes and pigments

Aniline dyes been tested on various species of fish and invertebrates, mostly shrimp, a number of times in recent years. Successful field experiments have been reported for starfish (Feder, 1955) and shrimp (Costello, 1959), but not for fish. A number of papers (Dunn and Coker, 1951; Anonymous, 1952; Carranza, 1953; Al-Hamid, 1954; Davis, 1955; Dunstan and Bostick, 1956; Chapman, 1957; Jackson, 1959) have been published on the use of aniline dyes with various species of fish, but none

of the results have been very successful. Most of the investigators did agree, however, that trypan blue was a superior dye, which proved to be the case for anchovetas as well.

One-per cent solutions of the dyes were used because Dawson (1957) found this to be the best concentration for marking shrimp. The dyes were first dissolved in small amounts of distilled water, and these solutions were in turn dissolved in filtered sea water. This procedure was employed because it was feared that the dyes might not dissolve directly in sea water. The solutions were prepared the day before use, because solutions several weeks old are suspected to have caused mortalities in shrimp (Anonymous, 1959).

Five of the seven fish marked with fast green FCF dye that died the first day and one of the twelve that died the second day had green coloring diffused throughout their bodies instead of only at the point of marking. This phenomenon did not occur with the other dyes.

Liquid latex was first used for marking fish by Davis (1955), and has subsequently been used by Chapman (1957) and Gerking (1958). The latex marks did not show up well on the day the fish were marked, nor the following day. However after 48 hours they were plainly visible as long narrow marks that followed the path of the needle. The marks remained plainly visible for about a week. On June 2, 14 days after marking, marks could be seen on very few of these fish in the live box. Upon examination of the fish it became apparent that the latex was working its way out through the skin. Shortly after the loss of the mark the location where it had been could be ascertained by the lack of scales there. However scales were soon regenerated over the area, so it was impossible to tell where the mark had been.

Gandolfi-Hornyold (1929a, 1929b) was the first to report the use of inert pigments for marking fish. Kask (1936), Hickling (1945), Gerking (1953), Davis (1959), Chapman (1957), and Clemens and Snead (1959) all used India ink for marking various species of fish. Wigley (1952) and Dunstan and Bostick (1956) used a variety of chemicals on larval lampreys and Pacific salmon respectively.

The ferric oxide marks showed up much more plainly than the cadmium sulfide marks at the base of the anal fin. Neither showed up well on the dorsal side of the fish. These marks were lost at about the same rate and in the same manner as the liquid latex marks.

Jackson (1959) used fluorescent pigments and a luminous polystyrene for marking various species of freshwater fish. A special lamp was needed to detect the presence of the marks.

Rhodamine 6 GDN extra and Brilliant acid yellow 8G are described as "technical" type dyes, while Thiazine red R is called a "pharmaceutical" type dye. Only the last is soluble in water, but the particles of the other two dyes were so fine that the same syringes and needles could

be used as with the soluble dyes. However the two insoluble dyes were rapidly ejected through the skin in the same manner as the inert pigments, so it appears that only water-soluble fluorescein dyes should be used to mark anchovetas. The Brilliant acid yellow 8G dye showed up very poorly, as had the yellow inert pigment, cadmium sulfide. The Rhodamine 6 GDN extra marks were soon lost, and necrotic scars appeared where the marks had been. The Thiazine red R marks behaved like the aniline dye marks, gradually fading away but probably not being shed through the skin. A few, however, bore necrotic scars at the point of marking, an occurrence that was not noted with any of the aniline dyes. The Thiazine red R marks were less distinct than any of the aniline dye marks and faded more rapidly. The fluorescein dyes that would cause the least mortalities and would be retained the longest time would have to be determined by further experimentation.

Fluorescein dyes are detectable by their capacity to glow in the presence of ultraviolet light when all other light is excluded. Therefore a detecting device to take advantage of this characteristic was obtained. It was thought that perhaps the dyes would fade to the extent that they would be invisible to the naked eye, but that their presence would still be detectable by the testing device. However this did not turn out to be the case, for although the dyes glowed distinctly in the detector when small amounts were spilled onto a piece of paper towelling, when they were injected into dead fish the marks were not visible at all. Therefore the device was of no value for detecting the marks, for apparently either the ultraviolet light or the resultant fluorescent radiation does not penetrate the skin of the fish.

#### Anesthetics

Anesthesia of fish has been practiced extensively in recent years. McFarland (1959, 1960) made a thorough study of this subject, with emphasis on long-term anesthesia to facilitate their transportation.

Like the aniline dyes, the anesthetics were first dissolved in small amounts of distilled water, and these solutions were in turn dissolved in sea water. This procedure was employed because it was feared that the anesthetics might not dissolve directly in sea water.

Chlorotone (hydrous chlorobutanol) had been used for anesthetizing the fish that were tagged and released in 1957. No holding experiments were conducted with it, but cursory observations indicated that it worked satisfactorily.

On June 16, 1959 some brief tests were conducted to test the relative efficacy of MS 222 and quinaldine. The former is by far the most widely-used anesthetic (Anonymous, n. d.), but the latter was stated to be superior by Muench (1958). Ten fish were put into a shallow pan containing about 2 liters of MS 222 solution at a concentration of 0.2 gram per gallon and ten others were put into the same quantity of quinaldine solution at a concentration of 10 parts per million. Each group of fish

was left in the solution for 3 minutes, after which time they had attained a state of partial anesthesia. They were then put into fresh sea water in the well of the log canoe, where complete recovery was accomplished in about 5 or 10 minutes. The reactions of the fish put into each of the two solutions were about the same, but those put into the quinaldine seemed to be rendered a little quieter and to recover a little more quickly. Because of these results and because of the superior virtues claimed for it by Muench (1958), quinaldine was tentatively chosen as the anesthetic for use.

On August 17 it was planned to conduct some additional tests with quinaldine. However some chemical change had occurred, and it would not dissolve in water. For this reason, and because tests described later in this report indicated that it might cause mortalities, its use was abandoned in favor of MS 222.

In 1960 much more thorough tests of anesthetics were made. In addition to MS 222, Dormison and tertiary amyl alcohol were tested. Experiments were conducted on May 10 with freshly-caught fish to determine the proper concentrations of each anesthetic for use. Ten fish were put into each of a number of 2½-gallon plastic buckets containing 2 gallons of sea water and various concentrations of the three anesthetics. They were left in the buckets for at least 2 hours, and the times required to reach the various stages of anesthesia described by Wilimovsky (1959) for Pacific herring, *Clupea pallasi*, were recorded (Table 4). The stages described by Wilimovsky are as follows:

Stage O—Normal, relaxed swimming; fish able to change depth freely. Opercular beats about 90 to 120 per minute.

Stage I-1—Fish appears to be in distress; characterized by very active upright swimming in corners of tank.

Stage I-2—Fish dancing on head or tail; head frequently poked out of water.

Stage II-1—Fish rolling from side to side or swimming with belly up; fish still reactive to touch.

Stage II-2—Swimming movements cease; belly up at surface or on bottom; no reaction to touch; opercular beats 90 to 50 per minute.

Stage III—Fish lie upside down on bottom; opercular beats erratic, 50 to 3 per minute; heart beat visible in pectoral fin reflex, averaging 50 per minute; blood begins to accumulate subcutaneously in all fin bases and on the sides.

Stage IV—Opercular movements cease, or are erratic with one or two beats per minute; heart beat 50 to 15 per minute rising rapidly to 80 to 90 per minute just before death; blood accumulation pronounced; recovery is doubtful after 1 or 2 minutes and death invariably ensues after 5 minutes.

The oxygen in the water in the buckets was replenished about every 15 minutes with the electric agitator. After a little more than 2 hours the fish were removed from the buckets and put into separate sections of the live boxes for observation. The two exceptions were the fish anesthetized with the two weakest concentrations of tertiary amyl alcohol, these being discarded after 28 minutes because the anesthetic had little effect on them at those concentrations.

The fish were left in the anesthetic solutions for 2 hours in order to find the concentrations of each anesthetic which would maintain the desired state of immobility for long periods of time, thus insuring that the concentration used was below the lethal dosage. Unfortunately all the fish died in the buckets except those anesthetized with 0.2 gram per gallon of MS 222, those anesthetized with 2 and 4 milliliters per gallon of tertiary amyl alcohol, and two of those anesthetized with 2 milliliters per gallon of Dormison. Those anesthetized with 0.2 gram per gallon of MS 222 were left in a section of one of the live boxes overnight, and all were dead the next morning.

On the basis of the results shown in Table 4, the following concentrations of anesthetics were chosen: MS 222, 0.4 gram per gallon; Dormison, 6 milliliters per gallon; tertiary amyl alcohol, 10 milliliters per gallon. For the group of experiments conducted on June 30 the concentration of MS 222 was reduced to 0.2 gram per gallon. Even though these concentrations were harmful to the fish when they were left in the anesthetic for several hours, it was hoped that the ill effects would be negligible in actual practice due to the short period of exposure employed.

Subsequent experience showed that it was not practical to use Dormison or tertiary amyl alcohol due to their slow action.

#### Antibiotics

Very little has been published on the use of antibiotics to control infection in fish. Van Duijn (1955) recommended aureomycin, terramycin, chloromycetin, streptomycin, and penicillin for various diseases of tropical aquarium fishes. Oppenheimer (1955) tested a large number of antibiotics alone and in combination, and found penicillin and streptomycin to be the most effective for reducing the numbers of bacteria in sea water and for increasing the survival of the eggs of *Sardinops caerulea*, *Gadus callarias*, and *Pleuronichthys* sp. Irwin (1959) successfully treated fin rot in *Hybognathus* spp., *Gambusia affinis*, and *Pimephales promelas* with terramycin. Norris, Brocato, Calandrino, and McFarland (1960) mention the use of terramycin for prevention of bacterial diseases during transportation. Sneed and Clemens (1960) found that the inclusion of penicillin with pituitary material injected into *Ictalurus punctatus* eliminated peritoneal lesions, infections, and adhesions.

Penicillin and terramycin were chosen for these experiments. Each tagged fish was to receive about 750 units of penicillin, or about 25 units per gram of body weight. In contrast, a 150-pound human being receives

only about 4½ units per gram with a standard 300,000-unit dose of penicillin. However some of the penicillin was unavoidably wasted in the process of inserting the tags and, at any rate, amounts in excess of what is needed are not likely to harm the fish. The terramycin was used at a concentration of 1 milliliter per gallon of sea water, which is equivalent to about 8 parts per million. This is considerably less than the 50 parts per million recommended by Oppenheimer (1955) or the 50 milligrams per gallon specified by van Duijn (1955) and Norris, Brocato, Calandrino, and McFarland (1960), because it was not realized at the time that so small a portion of the liquid was active terramycin.

While antibiotics prevent infection, they actually delay the healing of wounds. Whether this delay allows any additional tags to be shed is not known.

For the June 30 experiments, as mentioned earlier, the tags to be used in the fish which were to receive antibiotic treatment were immersed in 70-per cent ethyl alcohol. A similar procedure had been followed by Fridriksson and Aasen (1950), but the method employed for the present study proved to be unduly time-consuming.

## RESULTS

### Survival

Tables 5, 6, and 7 give detailed data on the mortalities of the fish in the experiments of 1958, 1959, and 1960.

The number of fish remaining alive on any particular day may be expressed by the formula:

$$b_i = a - c_i \quad (1)$$

where

$a$  = number of fish at the start of the experiment,

$b_i$  = number of fish remaining alive on the  $i$ th day after tagging,  
and

$c_i$  = number of fish that died to day  $i$ .

It is desirable for comparing the experiments to have the same number of fish at the start of each experiment, whereas in practice the same numbers were not always used. Therefore, in order to adjust the data to a common basis, the formula should be modified accordingly. Since most of the experiments were begun with 200 fish, this number is used as the common basis.

In addition, the numbers of fish accounted for when the experiments were terminated usually differed slightly from the numbers of fish recorded as having been involved when they were begun. These discrepancies are assumed to be due to errors made while counting the numbers of dead fish removed from the live boxes, while the counts of live fish introduced into the live boxes at the start of the experiments and the counts of the live ones removed when the experiments were terminated are assumed to be correct. It is desirable to adjust the data

to correct for these errors, prorating the adjustments over the duration of the experiments.

For purposes of computing the adjusted values of the numbers of fish remaining alive the following formulae are used:

$$a' = 200 \quad (2)$$

$$b'_t = b_t \frac{a'}{a} \quad (3)$$

$$c'_t = a' - b'_t \quad (4)$$

$$b'_i = a' - \frac{c'_t}{c_t} c_i \quad (5)$$

where

- $a$  = actual number of fish at the start of the experiment,
- $a'$  = adjusted number of fish at the start of the experiment,
- $b_t$  = actual number of fish alive at the termination of the experiment,
- $b'_i$  = adjusted number of fish alive on the  $i$ th day after tagging,
- $b'_t$  = adjusted number of fish alive at the termination of the experiment,
- $c_i$  = number of fish recorded as having died to day  $i$ ,
- $c_t$  = number of fish recorded as having died to the end of the experiment, and
- $c'_t$  = adjusted number of fish that died to the end of the experiment.

As an example, for Experiment 10a, involving hydrostatic tags,  $a = 99$ ,  $b_t = 91$ ,  $c_t = 6$ , and  $i$  can equal 5, the fifth day after tagging. Since two fish were recorded as having died by the fifth day after tagging,  $c_i = 2$ . Substituting the proper values in the equations,

$$b'_t = 91 \frac{200}{99} = 183.8$$

$$c'_t = 200 - 183.8 = 16.2$$

$$b'_i = 200 - \frac{16.2}{6} 2 = 194.6$$

Figures 1, 2, and 3 illustrate graphically the results of the above computations. Except for the experiments involving internal tags, the data are plotted for the first five days after tagging and thereafter only on the 10th, 20th, and last day of each month, and the dates that the experiments were terminated. For the other experiments the data are plotted at irregular intervals that correspond to the dates that the dead fish were examined to see if they had retained their tags. A logarithmic scale has been used in the ordinate in order to bring out the temporal changes in the rates, rather than the numbers, of fish surviving. The graphs extend from 2 to 200 fish on the ordinate; however in some cases they have been projected to less than 2 fish by extending the lines into the graphs below. The day preceding the day when no more fish remained alive is indicated by a short arrow pointing downward.

## 1958

Table 5 and Figure 1 give the mortality data for the 1958 experiments. With the exception of one group of experiments (3b, 4a, 6b, and 5b), all the fish were tagged the day or the day after they were caught. Heavy mortalities occurred the first few days after tagging in all these experiments except 3b and 4a. Subsequent experience in 1959 showed that most of these mortalities would have occurred whether the fish had been tagged or not, so it would have been wise to have held all the fish in captivity about a week before tagging.

The 1958 experiments are difficult to interpret from the standpoint of survival because no controls were used with most of them. The one time that controls were used (Experiments 4b, 2b, and 5e) the survivals of tagged and control fish were approximately equal. Most of the great variations in survival that occurred among the experiments cannot be attributed to differential effects of the various external tags. There is no apparent reason, for instance, why the slight differences in the toggle tags used in Experiments 1a, 2a, and 3a tagged on May 8 and 9 should have caused the great differences in survival that occurred. Great variations in survival between groups of fish tagged with the same type of tag in different months can also be discerned (Experiments 5a and 4a, 6a and 6b).

It is probable, however, that the internal tags did cause some mortalities, for in both of these experiments (5b and 5c) the mortalities were far heavier than in others carried out at approximately the same time of the year. The techniques employed in 1958 were therefore modified for the 1959 internal tag experiments.

## 1959

In 1959 all the fish were left in the live boxes about a week before they were tagged. The mortalities were fairly heavy the first few days after capture, but thereafter were greatly reduced (Table 18). The fish remaining in the live boxes at the time the tagging was undertaken were in good condition and apparently well adapted to life in captivity. The few that were injured or in poor condition at that time were discarded. Table 6 and Figures 2 and 3 give the mortality data for the 1959 experiments.

It appears that the external tags were not a significant cause of mortality, for only the fish with clip-on tags had a lower survival than the control fish. The mortalities were only slightly higher with this group, and this may have been caused by faulty tagging techniques or by selecting weaker fish to be tagged with this tag. The latter possibility is discussed in greater detail in a later section of this report.

In only one of the four experiments, 8b, involving fish tagged with internal tags, did heavy mortalities occur shortly after tagging. Even in this case the mortalities might not have taken place if the fish had not been anesthetized with quinaldine. This possibility is discussed below.

The greater survival of the tagged fish of Experiment 5f, as compared to the control fish of Experiment 1b, is probably attributable to the selection of stronger fish for tagging. This is discussed in greater detail in a later section of this report.

The survival was better for the fish of Experiment 9c than for those of Experiment 10c, indicating that fish tagged anteriorly with internal tags can be expected to survive better than those tagged posteriorly. (In addition, the shedding rate of the former group was lower, and the tags are easier to apply anteriorly than posteriorly.)

There is little doubt that the aniline dyes caused some mortalities. These were highest with the trypan blue dye and lowest with the fast green FCF dye. It is believed that some of the mortalities incurred in the experiment with the trypan blue dye might have been avoided by use of better techniques; perhaps mortalities due to marking could be completely eliminated with all three of the dyes.

The inert pigment marks do not appear to have caused significant mortalities in any of the experiments.

One of the three fluorescein dyes, Rhodamine 6 GDN extra, caused very heavy mortalities, while the other two did not. There is little doubt that this dye is harmful to the fish at the concentration used (3 per cent). Perhaps it would be possible for a specialist to determine by their chemical compositions which of the fluorescein dyes would be harmful to the fish.

Experiments 11b (unanesthetized controls), 2d (anesthetized controls), and 8b (anesthetized tagged fish) tested the effect on survival of the use of quinaldine as an anesthetic. The tagged fish suffered a high initial mortality of 64 fish in the first 3 days after tagging. High initial mortalities did not occur in the other three groups of fish tagged with internal tags (Experiments 5f, 9c, and 10c), none of which were anesthetized with quinaldine. Somewhat higher mortalities occurred with the anesthetized controls (15 in the first 3 days) than with the unanesthetized controls (0 in the first 3 days). Thus it appears possible that quinaldine at the concentration used, when combined with the shock of tagging, can cause mortalities that would not have occurred if the anesthetic had not been used.

The mortalities were higher in an unanesthetized control group (Experiment 11c) than in a control group anesthetized with MS 222 (Experiment 12c), so there is no evidence from these experiments that this anesthetic is harmful to the fish.

1960

Table 7 gives the mortality data for the 1960 experiments.

The fish tagged with circum-vertebral tags died more rapidly in July than the control fish while the reverse was true in August, so that the numbers of survivors to the date the experiments were ended were

almost identical. Whether the mortalities actually occurred at the times indicated is not certain, for large numbers of fish were unaccounted for, particularly among the control fish. In a later section of this report it is shown that most of the fish that died before the end of the experiment were tagged, while most of the survivors were untagged. This is interpreted to mean that the tags cause mortalities after several weeks, and that fish which shed their tags have a better chance of survival than those which retain them.

The 1960 experiments with internal tags afford the opportunity to study the effects on survival of three factors, tagging, anesthesia, and use of antibiotics; these are discussed in that order. The effects are studied by three different methods, comparison of the mortalities during the first 3 days after tagging, comparison of the mortalities from the fourth day to the end of the experiments, and comparison of the survivals to the end of the experiments. Three days after tagging has been chosen as the period for which to study the short-term effects of tagging and anesthesia because most of the heavy initial mortalities took place during this period. For the experiments of May 11-13 and May 27-29, the mortalities to May 15 and May 31 respectively are included.

The mortalities are adjusted by the method given at the beginning of this section, except that the numbers of fish involved in the experiments are not adjusted to 200. The values of  $a$  are used instead of  $a'$  because the significance of the differences in survival can be more easily evaluated when the figures are left at their original magnitude.

All but two of the experiments in the groups tagged May 11-13 and all of those in the group tagged June 30 were terminated on the same dates, which makes comparison of the survivals to those dates a simple matter. The slightly earlier terminations of two of the experiments of May 11-13 are ignored, since the resulting errors are inconsequential. Most of the experiments begun on May 27-29 were terminated on June 30; however one of them was ended on June 27 and four more were continued to September 1. The early termination of the one experiment is also ignored, and for the sake of comparison the survivals to June 30 are computed for the other four experiments. These are also calculated by the method given at the beginning of this section, except that 165 ( $a$ ), the number of fish tagged in each of these experiments, is again substituted for 200 ( $a'$ ) for the same reason explained above.

In the discussion below the results of certain experiments are combined in order to reduce the numbers of comparisons to be made and to increase the meaning of the comparisons by having larger numbers of fish in the groups that are compared. For instance, when the survivals of tagged and untagged fish are compared the tagged fish are grouped regardless of the anesthetics or antibiotics used, and likewise the control fish. Similarly, the survivals of fish tagged with and without antibiotics are combined when comparing anesthetics, and vice versa. For the comparisons involving anesthetics, however, the data on tagged and

untagged fish are shown separately as well as combined. There is no evidence that there was any interaction or combined effect between any of the three treatments, tagging, anesthesia, or exposure to antibiotics, so this procedure appears justified. The data on each individual experiment are given in Table 7.

Table 8 shows that the mortalities of the tagged fish were definitely greater than those of the untagged ones the first 3 days after tagging. Twice as many fish were tagged as were held as controls, so if the tagging had had no effect the mortalities of the tagged fish would be only twice the magnitude of those of the control fish. This was not the case in any of the three groups of experiments. Likewise, the survivals for the tagged fish should be twice those of the controls. This was not the case in any of the experiments (Table 9).

Table 10 compares the mortalities during the first 3 days after tagging for the three anesthetics and the control fish. This is considered to be the best method for comparison, for mortalities occurring long periods of time after tagging are not likely to have been caused by the anesthesia (McFarland, 1960). Although the results are not clear-cut, all three anesthetics seem to be somewhat harmful to the fish. Table 11, which compares the survivals of the fish, also indicates that all the anesthetics are harmful. Both tables tend to indicate that Dormison is the most harmful of the three anesthetics, followed by MS 222 and tertiary amyl alcohol in that order. In addition, it is obvious that Dormison and tertiary amyl alcohol are unsuitable for practical use because of the slow rate at which they anesthetize the fish.

For the experiments of June 30 the concentration of MS 222 was reduced from 0.4 to 0.2 gram per gallon. The results of all the experiments with MS 222 and with control fish are shown in Tables 12 and 13. For the first two groups of experiments the MS 222 seems to be harmful, but at the lower concentration used in the experiments of June 30 the anesthetized fish survived somewhat better than the control fish. The higher mortalities of the unanesthetized fish were perhaps due to over-exertion (Black, 1958). Even if the survival of fish anesthetized with MS 222 were no higher than that of control fish or slightly lower, its use would be justified for practical field experiments because of the significantly greater speed at which anesthetized fish can be tagged.

The data in Table 14 show that during the first 3 days after tagging heavier mortalities occurred among the control fish than among the fish treated with antibiotics. From the fourth day to the end of the experiments the mortalities were higher among the fish treated with antibiotics, as shown in Table 15. Table 16 demonstrates that the survivals to the end of the experiments were slightly greater for the control fish.

The purpose of the antibiotics was, of course, to prevent infection. The mortalities during the first 3 days after tagging are much more likely to have been caused by the combined shocks of capture, handling,

tagging, and confinement than by infection, so the data shown in Table 14 can be disregarded. A total of 161.5 control fish out of 418.5 available and 232.4 fish treated with antibiotics out of 471.4 available died from the fourth day to the end of the experiments, a difference which appears to be highly significant. However statistical tests to evaluate the validity of this conclusion are in order. Each of the six groups of fish shown in Table 15 was subjected to a Chi-square contingency test for homogeneity within itself. Three of the groups, the control group of June 30 and the groups of May 11-13 and May 27-29 treated with antibiotics, were found to be lacking in homogeneity at the 5-per cent level. (For the experiments of May 27-29, all the fish alive on June 30 were considered to have lived to the end of the experiments, since some of these experiments were terminated on that date.) Since lack of homogeneity is present in all three pairs of groups of experiments, comparison of the pairs is not a valid procedure. Thus the evidence that the use of antibiotics is harmful to the fish is of doubtful validity, and can be ignored until more data are available.

The tags for the fish that were to receive antibiotic treatment in the experiments of June 30 were immersed in 70-per cent ethyl alcohol before use. The mortalities from the fourth day after tagging to the end of the experiments were heavier among the fish with tags that had been immersed in alcohol than among the control fish (Table 15), so there is no evidence that the use of alcohol reduced the mortalities.

#### *Mortality of the fish in the live boxes from extraneous causes*

Mortality of the fish in the live boxes from causes outside of the experimental procedure is a matter of considerable interest and importance, and should be examined in detail in order to better evaluate the mortalities due to tagging, marking, anesthesia, and the use of antibiotics. It was shown in 1959 that most types of tags and marks cause little or no mortality to healthy fish if properly applied. However sometimes the fish may die in large numbers when confined in the live boxes before tagging, the amount of the mortality varying considerably from lot to lot. Since the primary objective in 1959 was to determine the extent of the shedding of the tags, the practice of holding the fish for about a week before tagging or marking was adopted. This proved to be an excellent procedure, for the mortalities were usually heavy for the first few days, and then dropped to an almost negligible amount, leaving a residue of fish well-adjusted to survival in captivity.

Tables 17, 18, and 19 show the mortalities of untagged fish occurring the first few days after capture in 1958, 1959, and 1960. Some of these were fish of control experiments, and others were fish that were being held preparatory to tagging. In 1958 about 486 fish were caught on August 28 and held for one day, during which time 20 of them died. Of the remainder, 189 were used for Experiment 4b, a control group. It is calculated that about 8 of the 20 fish that died the first day would have been in the control experiment if the experiments had been initiated

the day the fish were caught and the 20 fish had been divided proportionally among the 3 experiments begun August 29. In 1959 and 1960 the fish were caught on more than one day, and the catches of the different days were mixed, which tends to obscure the data somewhat. For instance the mortalities on May 12, 1959 are for fish caught on May 11, those on May 13 are for fish caught on May 11 and 12, and those on May 14-19 are for fish caught May 11, 12, and 13. These tables, however, clearly demonstrate the heavy mortalities that occur the first few days after capture and the rapid decrease in mortalities thereafter. Suehiro (1933) noted a similar mortality trend for *Sardinia melanosticta* and *Engraulis japonicus*, as did Janssen and Aplin (1945) and Loukashkin and Groody (1955) for *Sardinops caerulea*. Figures 2 and 3 show that significantly greater mortalities did not usually occur the first few days after tagging or marking.

Some data are given in Tables 20, 21, and 22 on the survival between capture and tagging and immediately after tagging in 1958, 1959, and 1960.

In 1958, in every instance but three, the mortality within a few days after capture was so high as to render the experiments nearly worthless. The exceptions were the groups of fish caught May 8, June 4-5, and August 28. The heavy mortalities within a few days after capture probably would have occurred even if the fish had not been tagged. The large internal tags were apparently a significant cause of mortality, and probably the small internal tags as well, but it is doubtful that the other tags killed many fish. The months of best survival in that year seem to have been June, July, and August. The mortalities were so heavy in October that no attempts were made to tag the fish caught in that month.

In 1959 the mortalities during the first week after capture were 30 per cent in May, 19 per cent in June, 6 per cent in July, and 33 per cent in August (Table 23). From these data June and July seem to be the best months for tagging from the standpoint of the hardiness of the fish.

In 1960 fish that proved to be poorly suited to survival in the live boxes were used for the experiments of May 11-13. Therefore it was decided to test the ability of the fish to survive in captivity before repeating the experiments. Fish were captured in two different areas, Ensenada Vique and Panamá Viejo, on May 23 and 24 respectively, and 300 fish from each area were put into separate sections of the live boxes. These fish survived well, so fish were captured for the live-box experiments on May 26-29. The weather was stormy on May 26, and all the fish died while being transported to Isla Taboga. The fish caught on May 27, which were from Ensenada Vique, survived fairly well, only 61 out of the 600 being dead on May 28. The mortality of the control fish (14 out of 200) was somewhat higher than that experienced on the first day of confinement by the fish caught in the same area on May 23 (2 out of 300), but not so high as to seriously reduce the effectiveness of the experiments. It was not possible to follow the mortalities of the fish

caught May 27 any further, as the fish caught May 28 and 29 were mixed in with them. No fish could be caught at Ensenada Vique on May 28 and 29, so they had to be captured at Isla Verde instead. These fish proved to be considerably weaker than those caught at Ensenada Vique on May 23 and 27, and high mortalities were the result.

On June 27 more anchovetas were caught to test their ability to survive in captivity. These fish were very large, being in their second year of life, or some of them possibly in their third year (Howard and Landa, 1958), rather than in their first year as are the majority of anchovetas. Previous experience has shown these large fish are notoriously unfit for survival in captivity, so the almost total mortality that they experienced was not unexpected.

The survival of the fish tagged on June 30 was considerably better than the survivals of those used in the experiments of May 11-13 and May 27-29.

Table 23 demonstrates that the ability to survive in captivity fluctuates considerably during short periods of time in a single season. In 1960, for instance, the fish caught at Ensenada Vique survived better than the fish caught a few days later at Isla Verde. Whether the individual groups of fish vary in their hardiness with the passage of time or whether strong and weak fish move from area to area is not known. Fishermen are well aware of the great variations in survival of different groups of anchovetas in their bait tanks. Sometimes heavy mortalities are known to be associated with the size of the fish, the season, sudden temperature changes, overcrowding, etc., but often the reason is not known.

There is some evidence that the fish of 1959 were harder than those of 1958 and 1960, for 1959 was the only year of the three in which no fish were taken that experienced such heavy mortalities that they were unsuitable for experimentation. However the variations in survival of the various lots of fish are so extreme that this cannot be proven.

#### *Evaluation and interpretation of the validity of the survival data*

Some paradoxical occurrences can be noted in Figure 1. On May 8 and 9 of 1958 three groups of fish were tagged with toggle tags (Experiments 1a, 2a, and 3a). Even though the fish of the two groups tagged on May 8 came from a common source the mortalities differed greatly. The fish tagged on May 9 were captured on that day and suffered heavier mortalities than either of the two groups tagged on May 8. The design of the toggle tags differed slightly, but since it has been shown that external tags cause little or no mortality it is almost certain that the differences in survival were due to intrinsic differences in the different lots of fish.

Some of the results obtained in 1959 are also difficult to explain. For the fish put into the live boxes in May, the mortalities were heavier among the fish of the control group (1b) than among those of the groups

tagged with toggle (2c) or internal tags (5f). The reason for this occurrence is possibly that weaker fish were used for the controls. Ordinarily in experiments of this sort such incidents can be avoided by using alternate fish for each group as they are removed from the common source, in this case the well of the log canoe. However this procedure was not followed because of the physical difficulties that would have been involved.

It is not clear how it came about that the weaker fish were selected for the control groups, if such was the case. However the control fish were caught rapidly from the log canoe for transfer to the live boxes, so that all the fish were constantly trying to avoid capture. Thus it is possible that in this situation the weakest fish tended to be caught for controls. The fish to be tagged were caught much more slowly, according to the time needed to accomplish these processes. Surprise, rather than weakness, may have been the principal factor involved in the capture of these fish.

Another possible explanation for the paradoxical occurrences mentioned above is that different conditions may have prevailed in the different sections. This appears particularly plausible when differential mortalities occurred months after tagging, as was the case in Experiments 1b, 2c, and 5f, and also Experiments 3d and 7b. On October 15, 1959 there was a heavy windstorm, and on the following day large numbers of dead fish were found in Sections 7 (28.3 out of 74.6 that had been alive on October 15) and 10 (45.4 out of 79.7). Above-average mortalities also occurred in Sections 8 (8.5 out of 66.3) and 9 (5.2 out of 109.4), while no more than 4.1 dead fish were found in any of the other sections, which contained up to 64.4 fish each. From the above data it seems possible that the position of the section in which the fish were confined had an influence on survival, but it is difficult to imagine how this transpired.

These occurrences should be kept in mind when reviewing the mortality data. In the light of this knowledge, it should be recognized that the interpretation of some of the results of the experiments is open to question. Thus the fact that the fish anesthetized with quinaldine (Experiment 2d) suffered somewhat higher mortalities than the control fish (Experiment 11b) does not positively indicate that quinaldine is harmful to the fish. Also, it cannot definitely be said that the clip-on tags were a cause of mortality, nor that the trypan red dye killed more fish than the fast green FCF dye.

In 1960, having noted the above occurrences, the necessity of tagging the fish of the various groups alternately was realized. Therefore they were tagged in groups of 10, as described in the Methods and Materials section of this report. If this procedure had not been followed it is doubtful that interpretation of the data could have been made with any degree of confidence. The tagging of the fish alternately did not completely eliminate the unexplainable differences in survival, however. The experiments of May 11-13 and May 27-29 were identical, yet

differences in the results took place which were of such significant magnitude as to be outside the realm of probability of random variation. The most conspicuous of these variations are the low survivals of the fish of Experiments 11e and 10e. These unexplainable differences are unfortunate, but in most cases probably do not prevent correct interpretation of the results of the 1960 experiments.

#### **Retention of the tags and marks**

Tables 5, 6, and 7 give detailed data on the shedding of the tags of the fish in the experiments of 1958, 1959, and 1960.

The most obvious way to determine the amount of shedding of the tags is to tabulate the numbers of tags found on the floor of the sections each day. It was difficult to find the tags on the floor of the live boxes, however, and hence from this standpoint the figures are underestimates of the rate of shedding because some tags were not found until several days after they were shed, or not at all. On the other hand, some tags undoubtedly dropped off the fish after they had died and begun to decompose, so that from this standpoint the figures are overestimates of the numbers of tags shed. Naturally, heavy mortalities of tagged fish shortly after tagging would reduce the numbers of tags that could later be found on the floor after having been shed by live fish. This was a serious problem in 1958 and 1960 when most of the fish were tagged shortly after capture.

Another method for measuring the shedding is to tabulate the numbers of fish which had retained their tags and the numbers which had shed them after various intervals following tagging, as measured by whether or not the fish that died during those intervals and the fish that lived to end of the experiments had retained their tags. These figures provide an indirect measure of shedding, but one which is more accurate than that obtained by using the numbers of tags found on the floor. Loss of the tags by the fish after death is still a problem with this method unless the badly rotted fish which may have lost their tags after death are eliminated from the tabulations. It was possible to eliminate these only with the 1959 internal tag experiments and the 1960 experiments, for in the other experiments the field assistant merely recorded whether or not the dead fish had retained their tags and then discarded them, making no record of whether or not they were so badly rotted that the tag might have dropped off after the fish had died.

The number of tagged fish remaining alive on any particular day may be expressed by the formula:

$$e_i = d - f_i \quad (6)$$

where

$d$  = number of tagged fish at the start of the experiment,

$e_i$  = number of tagged fish remaining alive on the  $i$ th day after tagging, and

$f_i$  = number of tags lost through mortality and shedding to day  $i$ .

As indicated on page 350, it is desirable to adjust the data to a common basis of 200 fish at the beginning of each experiment. For this purpose the following formulae are used:

$$d' = 200 \quad (7)$$

$$e'_t = e_t - \frac{d'}{d} \quad (8)$$

$$f'_t = d' - e'_t \quad (9)$$

$$f_t = g_t + h_t \quad (10)$$

$$f_i = g_i + h_i \quad (11)$$

$$e'_i = d' - \frac{f'_t}{f_t} f_i \quad (12)$$

where

- $d$  = actual number of tagged fish at the start of the experiment,
- $d'$  = adjusted number of tagged fish at the start of the experiment,
- $e_t$  = actual number of tagged fish alive at the termination of the experiment,
- $e'_i$  = adjusted number of tagged fish alive on the  $i$ th day after tagging,
- $e'_t$  = adjusted number of tagged fish alive at the termination of the experiment,
- $f_i$  = number of tags recorded as having been lost through mortality and shedding to day  $i$ ,
- $f_t$  = number of tags recorded as having been lost through mortality and shedding to the termination of the experiment,
- $f'_t$  = adjusted number of tags lost through mortality and shedding to the termination of the experiment,
- $g_i$  = number of fish recorded as having died with tags to day  $i$ ,
- $g_t$  = number of fish recorded as having died with tags to the termination of the experiment,
- $h_i$  = number of tags recorded as having been found on the floor to day  $i$ , and
- $h_t$  = number of tags recorded as having been found on the floor to the termination of the experiment.

Continuing with the example for Experiment 10a,  $d = 99$ ,  $e_t = 1$ ,  $f_t = 97$ ,  $g_t = 2$ ,  $h_t = 95$ , and  $i$  can equal 5, the fifth day after tagging. Since 32 tags had been lost by the fifth day after tagging,  $f_i = 32$ . Substituting the proper values in the equations,

$$d' = 200$$

$$e'_t = 1 - \frac{200}{99} = 2.0$$

$$f'_t = 200 - 2.0 = 198.0$$

$$f_t = 2 + 95 = 97$$

$$f_i = 1 + 31 = 32$$

$$e'_i = 200 - \frac{198.0}{97} 32 = 134.7$$

The numbers of tagged fish remaining alive, calculated as shown above, and the numbers of fish surviving as calculated on page 351, have been graphed in Figures 1, 2, and 3. Since the two lines on each graph represent losses through mortality and losses through mortality and shedding combined, the amount of divergence between the two lines (in relation to time as shown on the abscissa) provides an index of the rate of shedding. In addition, the numbers of tagged fish remaining alive is a particularly valuable statistic because it simplifies the evaluation of the experiments by combining the losses of tags through mortality and shedding.

#### 1958

The 1958 live-box experiments were conducted primarily because it was suspected, after the poor results of the tagging experiments of previous years, that the tags were being shed excessively. The 1958 experiments have shown conclusively that this was true.

Tables 5 and 24 and Figure 1 show the shedding of the tags as measured by the three methods discussed above. The best tag by far, from the standpoint of retention, was the spaghetti loop tag. This was the only type of tag retained more than 50 days on any of the fish. The spaghetti streamer tag was a very poor second. The monofilament nylon toggle tags, which were similar to those used in 1954, 1955, 1956, and 1957, all showed little retention after 30 days. The retention of the braided nylon toggle tags seemed to have been better than that of the monofilament nylon toggle tags; however the merits of this tag were difficult to evaluate on the basis of the 1958 data since only one fish survived for more than 30 days in confinement. The spaghetti toggle tag seemed to have been a little inferior to the braided nylon toggle tag and, in addition, is difficult to make. The hydrostatic tags appeared to have been shed at about the same rate as the toggle tags. The dead fish which had been tagged with internal tags were not examined to see if the tags had been retained. It is doubtful, however, that significant shedding could have taken place in the short time between tagging and death of these fish.

#### 1959

Since the retention of none of the external tags employed in 1958 was satisfactory, the 1959 experiments involved new types of tags or new variations of the old tags. Tables 6 and 25 and Figure 2 show the shedding of the external tags as measured by the three methods discussed above. The relative efficacy of the various tags in regard to shedding was probably clip-on, toggle, dart, Atkins, hydrostatic, and opercle in that order. The first was the only type of tag retained more than 50 days on any of the fish, and was approximately equal to the spaghetti loop tag employed in 1958. The results with the braided nylon toggle tags were quite similar to those experienced with the monofilament nylon toggle tags in the preceding year.

Data on the retention of the internal tags are given in Tables 6 and 26 and Figure 3. At first there was no way to recover the tags that had been shed except to see them on the floor and dip them out with a dip net, an obviously ineffective procedure. On June 29, Mr. Delgado climbed into Section 5 and by feeling around with his hands found 69 tags. On July 20 he was supplied with magnets to drag along the floor to recover the tags that had been shed. That these magnets were an effective means of recovering the tags is demonstrated by Table 26, which shows that 166, 190, 187, and 185 tags were accounted for in Experiments 5f, 8b, 9c, and 10c respectively.

Recovery of the tags on the floor of the live boxes (Table 26) is not a very satisfactory method for estimating the rate of shedding for the reasons stated at the beginning of this section. Disregarding Experiment 8b, the only experiment in which heavy mortalities occurred shortly after tagging, enumeration of the tags found on the floor of the live boxes indicates that the shedding rate was highest in Experiment 5f, followed by Experiments 10c and 9c in that order. It is also apparent that most of the shedding took place within the first month after tagging.

The rate of shedding can be determined indirectly, but more accurately, by examination of the dead and live fish to see if they have retained their tags. Accordingly, beginning in July, all dead fish removed from the sections with internal tag experiments were preserved in separate jars. At irregular intervals that averaged about three times a month, as shown in Table 26, the dead fish were removed from the jars and examined to see if the tags had been retained. The "Unknown" category in the table consists mostly of fish whose bellies were rotted out when they were removed from the sections, and for which it was thus not possible to determine whether or not they were tagged when they died. Also entered in the "Unknown" column are three live fish that escaped on December 22 when they were being removed from the live boxes. The figures in Table 26 differ slightly from those in Table 2 due to errors made in the field.

Evidence that the great majority of the shedding took place within a month after tagging is indicated by the fact that in each section the ratio of tagged to untagged fish within each experiment remained constant among those fish that had lived at least 1 month after tagging. Accordingly, only those fish were used to indicate the total amount of shedding that took place. The data are shown in Table 27. These results confirm the conclusions as to the relative shedding rates that occurred in the various experiments as determined from the numbers of tags found on the floor of the sections.

A third indication of the rate of shedding is provided by Figure 3, which corresponds to Figures 1 and 2 for the external tags. The divergence between the lines showing survival and the lines showing tagged fish remaining alive is a measure of the amount of shedding. In

strong contrast to the external tag experiments, it can be noted that the divergence occurred almost entirely during the first month after tagging. After the first month the lines remain nearly parallel due to the almost total lack of further shedding. When the lines converge it is due to the deaths of an unduly large portion of untagged fish, leaving a greater percentage of tagged fish among the living. Divergence is due to the opposite occurrence or to shedding. These results again confirm the conclusions as to the relative shedding rates that occurred in the various experiments as determined by the numbers of tags found on the floor of the sections and by the relative proportions of tagged and untagged fish among the dead ones. It is particularly noteworthy that the fish of Experiment 9c, tagged anteriorly, retained their tags better than those of Experiment 10c, tagged posteriorly. In addition, the survival rate of the former group was higher, and the tags are easier to apply anteriorly than posteriorly.

Table 28 gives the numbers of tagged fish remaining alive for each of the internal tag experiments after certain selected intervals of time. These are adjusted figures, computed by the formulae given at the beginning of this section, and are the same as those used for Figure 3. This table gives what is perhaps some indication of the relative amount of recoveries to be expected from tag releases at different times of the year, providing the fishery takes a constant portion of the population.

From the table it is apparent that Experiment 5f was the most successful because it had the greatest numbers of tagged fish remaining alive after each selected interval of time (with one very minor exception). However this was not because the tags were shed less than in the other experiments, for the opposite was shown to be the case in Table 27. Experiment 5f was the most successful because the survival was the best for this experiment, and this was principally because of the time of year that the fish were tagged. If the technique of insertion of the tags anteriorly that was employed in Experiment 9c had been used for experiment 5f, perhaps the mortality and shedding rates would have been still lower and the number of tagged fish remaining alive would have been even higher.

It may be a general rule that as the season progresses the shedding is lower but the mortalities are higher (Tables 27 and 28). The net result, if this is the case, is a greater loss of tagged fish later in the season because the increase in tag retention is not enough to compensate for the heavier mortalities of the tagged fish.

It was not feasible to make numerous observations on the fish marked with aniline dyes to observe the rate of fading of the dyes, and even if this had been done no objective index of fading was available. The results agreed fairly well with those of Dunn and Coker (1951), Al-Hamid (1954), Dunstan and Bostick (1956), and Costello (1959) in regard to the relative fading of the various dyes. When the fish were examined alive

the best dye from the standpoint of retention seemed to be trypan blue, followed by fast green FCF and trypan red in that order. When the experiments were terminated none of the fish marked with trypan blue were still alive, but nearly all the survivors marked with the other two dyes still had plainly visible marks. On the fresh fish the fast green FCF marks were somewhat more conspicuous than the trypan red ones. When they were preserved in formalin the trypan red marks virtually disappeared while the fast green FCF marks seemed to be somewhat enhanced. Both of these lots of fish had been in the live boxes for over 5 months.

The inert pigment marks were visible for about a week, and practically all had disappeared after 2 weeks. These results are contrary to those of other investigators, and probably may be attributed to physical and/or physiological differences in the species of fish involved.

The two insoluble fluorescein dye marks, Rhodamine 6 GDN extra and Brilliant acid yellow 8G, disappeared at about the same rate as the inert pigments. The Thiazine red R marks had faded very badly only 11 days after marking and completely disappeared in 3 weeks.

#### 1960

The procedure for recording the data for the external tag experiment in 1960 was modified from that of previous years. Instead of having the field assistant record daily whether or not the dead fish were tagged, they were preserved for later examination, as was done for the internal tags. Table 29 is equivalent to Tables 24 and 25 for 1958 and 1959, respectively, except that the procedure employed in 1960 requires that different time intervals be used. The total number of dead fish in this table differs from the figure shown in Table 3 because the numbers of fish preserved in the jar were less than the numbers recorded in the notebook as having died, and because some of the fish in the jar were so badly decomposed that it was not possible to tell whether they had lost their tags before or after death. The results are most peculiar in that though 68 out of the 73 fish that died before the experiment was terminated had retained their tags, only 2 out of the 25 that lived to the end of the experiment were tagged. Apparently, the reason for this is that the tags tended to kill the fish, not immediately, but after several weeks. The fish that managed to shed their tags therefore had a much better chance for survival.

Table 30 gives data for 1960 equivalent to those given in Table 26 for 1959. All the concurrent experiments performed with antibiotics and all those performed without antibiotics (except, of course, those in which the fish were not tagged) are combined in this table. This has been done in order to reduce the number of comparisons to be made and to increase the significance of the comparisons by having larger numbers of fish in the groups that are compared. There is no known reason why the different anesthetics should affect the shedding nor any evidence from the data that they did, so this procedure seems justified. As in 1959, the number

of tags found on the floor of the sections is a poor indicator of shedding. Table 30, like Table 26, indicates that most of the shedding took place during the first month after tagging. Therefore only the fish that lived at least 1 month after tagging are used to indicate the total amount of shedding that took place.

The data shown in Table 31 appear to indicate that the use of antibiotics reduces the rate of shedding by roughly 25 per cent. To test this statistically, the experiments within each of the four groups shown in the table were analyzed by the Chi-square contingency test. The results showed that at the 5-per cent probability level each of the two groups of experiments initiated on May 27-29 was homogeneous within itself. A comparison of the two groups of pooled data yielded a Chi-square value of 2.31 with 1 degree of freedom. This is not significant at the 5-per cent level, so the hypothesis that the antibiotics do not reduce the rate of shedding is not rejected. Chi-square contingency tests showed that at the 5-per cent level neither of the two groups of experiments of June 30 was homogeneous within itself, so the pooled data could not be compared. The statistical evidence is thus not sufficient to demonstrate whether or not the use of antibiotics decreases the rate of shedding of the tags.

Like Table 27, Table 31 indicates that the rate of shedding decreases as the season progresses.

The tags for the fish that were to receive antibiotic treatment were immersed in 70-per cent ethyl alcohol before use for the experiments of June 30, but not those of May 27-29. The results of these experiments, in comparison to their respective control experiments, are very similar (Table 31), so there is no evidence that the alcohol contributed to the reduction of the shedding of the tags of the June 30 experiments.

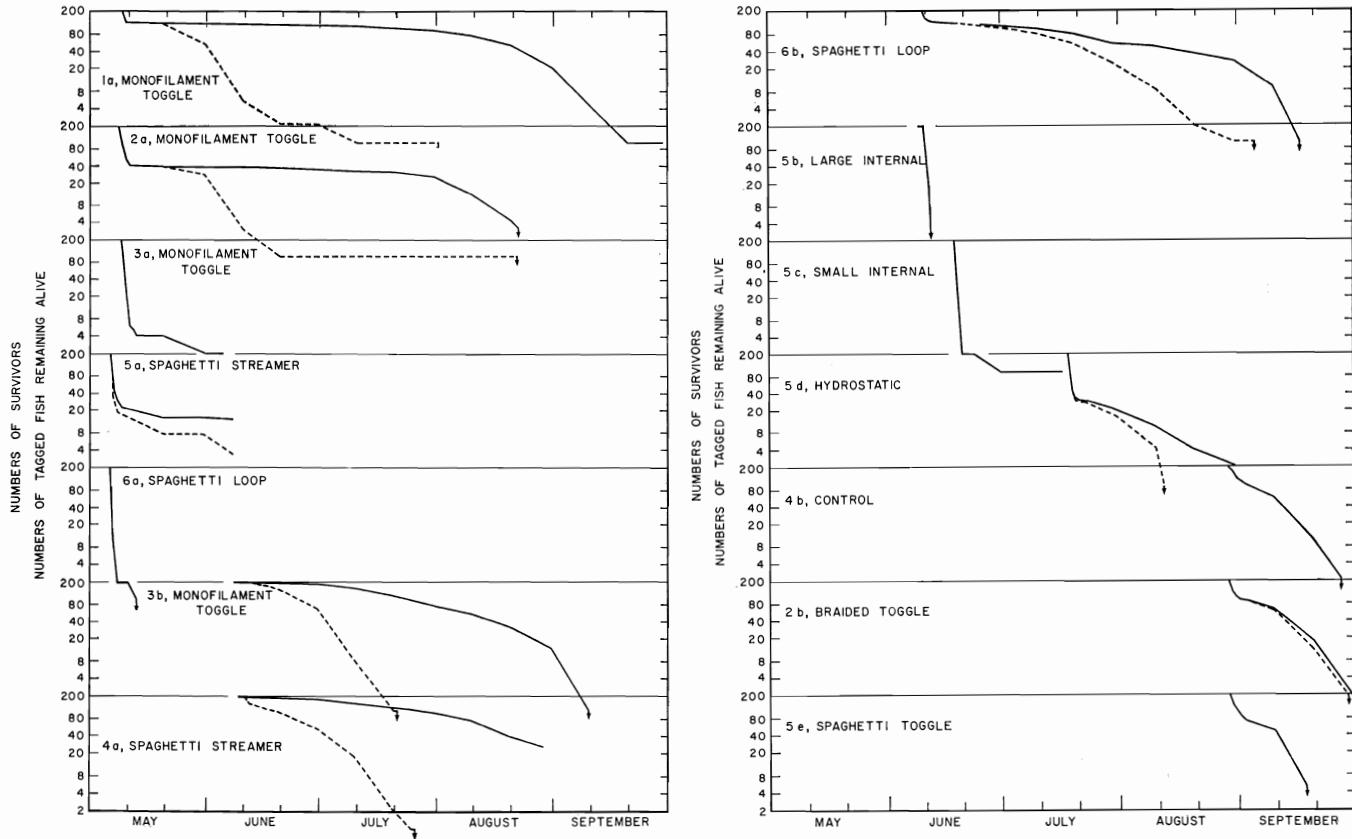
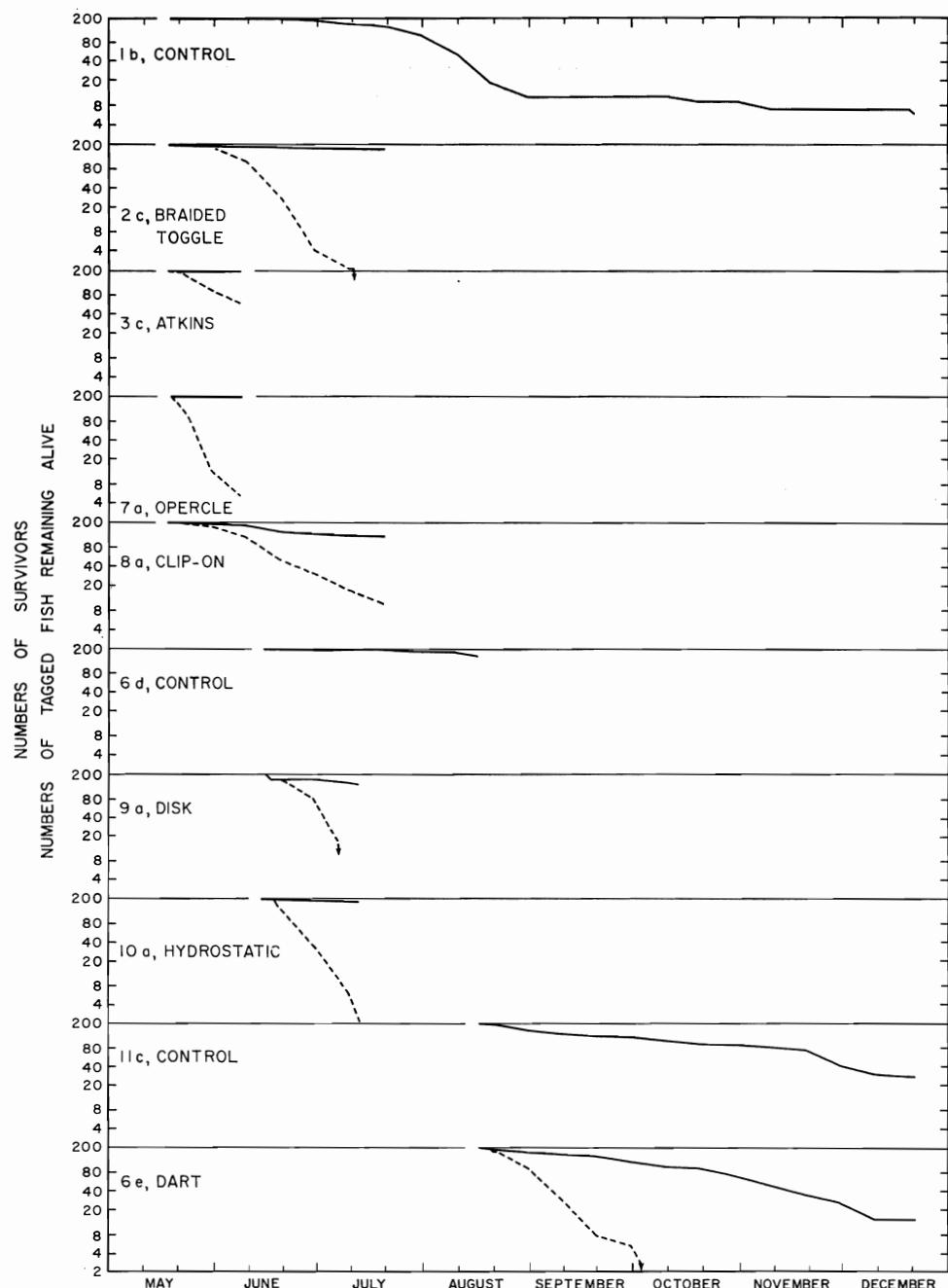


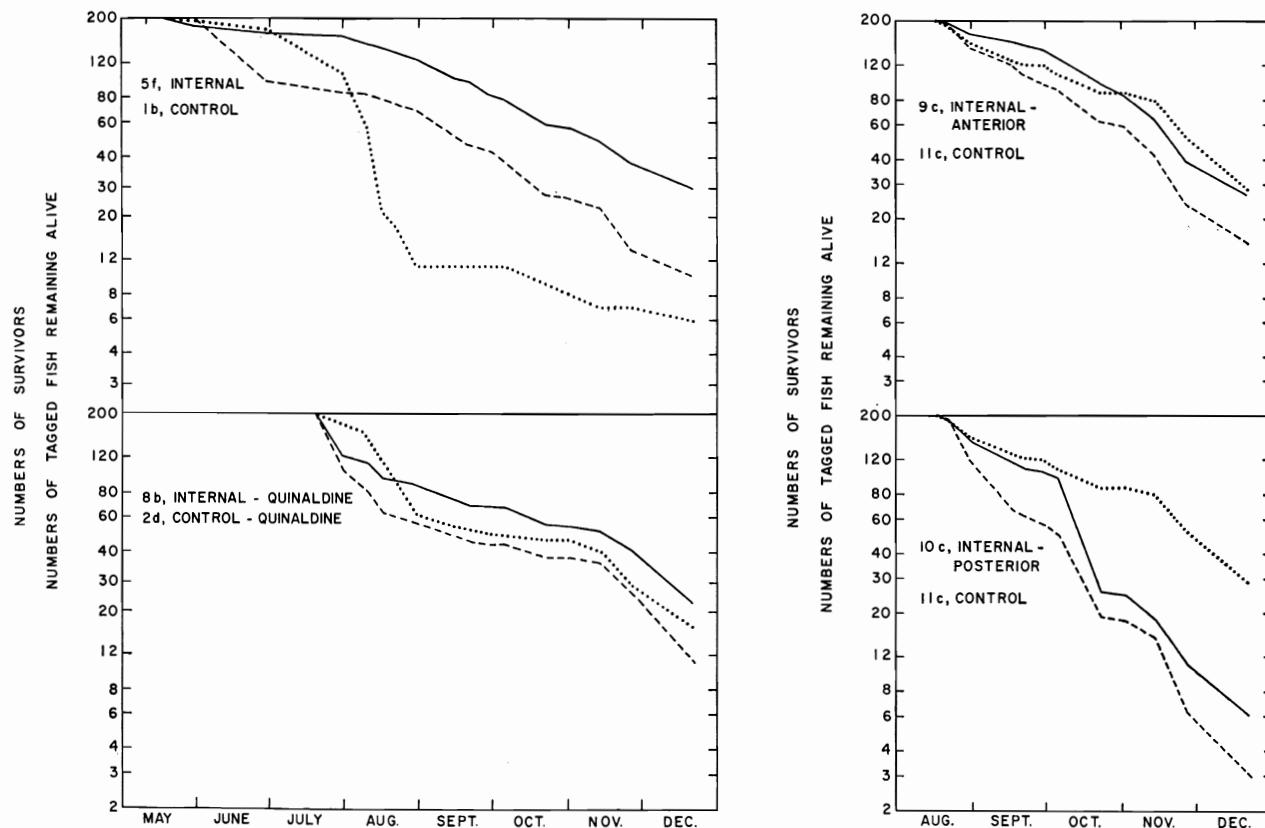
FIGURE 1. Number of survivors and numbers of tagged fish remaining alive for the 1958 experiments. The solid lines indicate the numbers of survivors and the dashed lines the numbers of tagged fish remaining alive. All the data are adjusted (Table 5).

FIGURA 1. Número de sobrevivientes y número de peces marcados que quedaron vivos en los experimentos de 1958. Las líneas continuas indican el número de sobrevivientes y las líneas a rayas el número de peces marcados que quedaron vivos. Todos los datos han sido ajustados (Tabla 5).



**FIGURE 2.** Numbers of survivors and numbers of tagged fish remaining alive for the 1959 experiments with external tags. The solid lines indicate the numbers of survivors and the dashed lines the numbers of tagged fish remaining alive. All the data are adjusted (Table 6).

**FIGURA 2.** Número de sobrevivientes y número de peces marcados que quedaron vivos en los experimentos de 1959, con marcas externas. Las líneas continuas indican el número de sobrevivientes y las líneas a rayas el número de peces marcados que quedaron vivos. Todos los datos han sido ajustados (Tabla 6).



**FIGURE 3.** Numbers of survivors and numbers of tagged fish remaining alive for the 1959 experiments with internal tags and their concurrent control experiments. The solid lines indicate the number of survivors and the dashed lines the numbers of tagged fish remaining alive for the internal tag experiments. The dotted lines indicate the numbers of survivors for the control experiments. All the data are adjusted (Table 6).

**FIGURA 3.** Número de sobrevivientes y número de peces marcados que quedaron vivos en los experimentos de 1959 con marcas internas y sus concurrentes experimentos de control. Las líneas continuas indican el número de sobrevivientes y las líneas a rayas el número de peces marcados que quedaron vivos en los experimentos con marcas internas. Las líneas a puntos indican el número de sobrevivientes en los experimentos de control. Todos los datos han sido ajustados (Tabla 6).

**TABLE 1.** Summary of tagging experiments conducted in 1958. The experiments are numbered according to the sections (1-6) of the live boxes in which they were conducted and the order in which the fish were tagged.

**TABLA 1.** Resumen de los experimentos de marcación efectuados en 1958. Los experimentos están numerados de acuerdo con las secciones (1-6) de los viveros en los cuales se efectuaban y al orden en que los peces fueron marcados.

Experiment	Tag type	Date initiated	Number tagged	Date terminated	Number died before termination	Number living at termination	Number accounted for
Experi- mento	Tipo de marca	Fecha inicial	No. de peces marcados	Fecha en que terminó	No. de peces muertos antes del final	No. de peces vivos al final	No. de peces tenidos en cuenta
1a	mono. toggle	8 May	192	30 Sep.	189	1	190
2a	mono. toggle	8 May	200	23 Aug.	191	0	191
3a	mono. toggle	9 May	200	4 June	200	2	202
5a	spag. streamer	6 May	206	9 June	181	14	195
6a	spag. loop	6 May	209	14 May	211	0	211
3b	mono. toggle	9 June	200	11 Sep.	185	0	185
4a	spag. streamer	9 June	200	29 Aug.	168	24	192
6b	spag. loop	9-10 June	200	18 Sep.	204	0	204
5b	large internal	10 June	200	13 June	200	0	200
5c	small internal	18 June	200	17 July	198	1	199
5d	hydrostatic	18 July	100	29 Aug.	99	1	100
4b	control	29 Aug.	189	28 Sep.	179	0	179
2b	braided toggle	29 Aug.	215	30 Sep.	213	2	215
5e	spag. toggle	29 Aug.	42	20 Sep.	39	0	39

**TABLE 2.** Summary of tagging and marking experiments conducted in 1959. The experiments are numbered according to the sections (1-12) of the live boxes in which they were conducted and the order in which the fish were tagged. A small number of fish may have escaped from Section 6 shortly before the termination of Experiment 6e.

**TABLA 2.** Resumen de los experimentos de marcación efectuados en 1959. Los experimentos están numerados de acuerdo con las secciones (1-12) de los viveros en los cuales se efectuaban y al orden en que los peces fueron marcados. Un pequeño número de peces puede haberse escapado de la Sección 6 poco tiempo antes del final del Experimento 6e.

Experiment	Tag or mark	Date initiated	Number involved	Date terminated	Number died before termination	Number living at termination	Number accounted for
Experi- mento	Marca	Fecha inicial	No. de peces implicados	Fecha en que terminó	No. de peces muertos antes del final	No. de peces vivos al final	No. de peces tenidos en cuenta
1b	control	18 May	200	22 Dec.	185	6	191
2c	braided toggle tag	18 May	200	20 July	34	165	199
3c	Atkins tag	18 May	200	8 June	7	194	201
7a	opercle tag	19 May	200	8 June	11	188	199
8a	clip-on tag	18 May	200	20 July	74	120	194
5f	internal tag	19 May	200	22 Dec.	170	28	198
4c	trypan blue mark	18 May	200	5 Nov.	199	0	199
6c	latex mark	19 May	200	8 June	9	192	201
6d	control	15 June	200	17 Aug.	39	153	192
9a	disk tag	15 June	16	13 July	5	11	16
10a	hydrostatic tag	15 June	99	13 July	6	91	97
3d	trypan red mark	15 June	200	22 Dec.	172	18	190
7b	fast green FCF mark	15 June	200	22 Dec.	178	20	198
11a	ferric oxide mark	16 June	200	15 July	18	180	198
12a	cadmium sulfide mark	16 June	200	15 July	25	188	213
11b	control	20 July	200	10 Aug.	7	193	200
2d	control-quinaldine	20 July	200	22 Dec.	175	17	192
8b	internal tag-quinal.	20 July	200	22 Dec.	189	22	211
9b	Rhodamine 6 GDN mark	20 July	200	10 Aug.	181	23	204
10b	Thiazine red R mark	20 July	200	10 Aug.	8	192	200
12b	Bril. acid yel. mark	20 July	200	10 Aug.	8	195	203
11c	control	17 Aug.	100	22 Dec.	80	14	94
12c	control-MS 222	17 Aug.	100	22 Dec.	67	31	98
6e	dart tag	17 Aug.	85	22 Dec.	74	6	80
9c	internal tag-ant.	17 Aug.	200	22 Dec.	167	26	193
10c	internal tag-post.	17 Aug.	200	22 Dec.	158	6	164

**TABLE 3.** Summary of tagging experiments conducted in 1960. The experiments are numbered according to the sections (1-12) of the live boxes in which they were conducted and the order in which the fish were tagged.

**TABLA 3.** Resumen de los experimentos de marcación efectuados en 1960. Los experimentos están numerados de acuerdo con las secciones (1-12) de los viveros en los cuales se efectuaban y al orden en que los peces fueron marcados.

Experiment	Tag type	Date initiated	Number tagged	Date terminated	Number died before termination	Number living at termination	Number accounted for
Experi- mento	Tipo de marca	Fecha inicial	No. de peces marcados	Fecha en que terminó	No. de peces muertos antes del final	No. de peces vivos al final	No. de peces tenidos en cuenta
4d	control	11-13 May	190	26 May	129	58	187
6f	internal	11-13 May	190	26 May	172	17	189
5g	internal-anti.	11-13 May	190	26 May	165	25	190
7c	control-MS 222	11-13 May	190	26 May	154	34	188
11d	internal-MS 222	11-13 May	190	26 May	151	19	170
10d	internal-MS 222-anti.	11-13 May	190	26 May	170	20	190
2e	control-Dormison	11-13 May	190	24 May	144	54	198
12d	internal-Dormison	11-13 May	190	26 May	160	18	178
1c	internal-Dormison-anti.	11-13 May	190	26 May	189	12	201
3e	control-amyl alc.	11-13 May	190	23 May	136	54	190
8c	internal-amyl alc.	11-13 May	190	26 May	180	10	190
9d	internal-amyl alc.-anti.	11-13 May	190	26 May	186	22	208
4e	control	27-29 May	165	1 July	100	57	157
6g	internal	27-29 May	165	1 Sep.	124	34	158
5h	internal-anti.	27-29 May	165	1 Sep.	134	25	159
7d	control-MS 222	27-29 May	165	1 July	108	56	164
11e	internal-MS 222	27-29 May	165	1 Sep.	153	3	156
10e	internal-MS 222-anti.	27-29 May	165	1 Sep.	149	1	150
2f	control-Dormison	27-29 May	165	30 June	127	30	157
12e	internal-Dormison	27-29 May	165	30 June	134	25	159
1d	internal-Dormison-anti.	27-29 May	165	30 June	137	26	163
3f	control-amyl alc.	27-29 May	165	27 June	122	40	162
8d	internal-amyl alc.	27-29 May	165	30 June	132	32	164
9e	internal-amyl alc.-anti.	27-29 May	165	30 June	126	50	176
3g	control	30 June	158	1 Sep.	93	25	118
2g	internal	30 June	158	1 Sep.	94	41	135
1e	internal-anti.	30 June	158	1 Sep.	100	31	131
12f	control-MS 222	30 June	160	1 Sep.	58	54	112
8e	internal-MS 222	30 June	160	1 Sep.	89	58	147
9f	internal-MS 222-anti.	30 June	160	1 Sep.	109	27	136
4f	control	6 July	200	1 Sep.	74	26	100
7e	circum-vertebral	6 July	200	1 Sep.	133	25	158

TABLE 4. Results of tests conducted to determine the proper concentrations of anesthetics for use for tagging anchovetas.  
 TABLA 4. Resultados de las pruebas hechas para determinar las concentraciones apropiadas de anestésicos para usar al marcar anchovetas.

Anesthetic	Concentration	Minutes required to reach each stage										Removed from anesthetic
		I-1	I-2	I-2 or II-1	approaching II-1	II-1	approaching II-2	II-2	II-2 or III	III	III or IV	
Anestésico	Concentración	Minutos requeridos para alcanzar cada estado										Sacados del anestésico
		I-1	I-2	I-2 ó II-1	acercañándose a II-1	II-1	acercañándose a II-2	II-2	II-2 ó III	III	III ó IV	
MS 222	0.2 g. per gal.	immediate	1	—	—	28	—	40	50	—	—	121
MS 222	0.4 g. per gal.	immediate	—	—	—	1	—	2	—	4	20	121
MS 222	0.6 g. per gal.	immediate	—	—	—	1	—	—	—	2	20	121
MS 222	0.8 g. per gal.	immediate	—	—	—	—	—	1	—	2	20	121
Dormison	2 ml. per gal.	very soon	very soon	—	—	61	82	—	—	—	—	132
Dormison	4 ml. per gal.	very soon	very soon	—	40	—	—	—	46	—	102	132
Dormison	6 ml. per gal.	very soon	very soon	—	—	<5	—	19	—	—	27	132
Dormison	8 ml. per gal.	very soon	very soon	—	—	<5	—	19	—	—	27	132
tertiary amyl alcohol	2 ml. per gal.	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	28
tertiary amyl alcohol	4 ml. per gal.	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	28
tertiary amyl alcohol	6 ml. per gal.	6	—	11	—	—	—	51	74	—	111	153
tertiary amyl alcohol	8 ml. per gal.	6	—	11	—	33	—	—	43	—	51	153
tertiary amyl alcohol	12 ml. per gal.	—	—	—	—	3	—	—	5	—	19	153
tertiary amyl alcohol	16 ml. per gal.	—	—	—	—	3	—	—	5	—	19	153

TABLE 5. Detailed data on mortalities and shedding of tags for the 1958 live-box experiments. All the figures are cumulative.  
 TABLA 5. Detalle de los datos sobre la mortalidad y el desprendimiento de las marcas en los experimentos en viveros durante 1958.  
 Todas las cantidades son acumulativas.

Experiment Experimento	1a, monofilament toggle						2a, monofilament toggle					
	Number dead			Adjusted			Number dead			Adjusted		
	Tags re-tained	Tags shed	Total	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Tags re-tained	Tags shed	Total	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for
<b>Fecha</b>												
Registrado				Ajustado			Registrado			Ajustado		
No. de peces muertos				No. de peces muertos			No. de peces muertos			No. de peces muertos		
	Marcas retenidas	Marcas desprendidas	Total	Marcas en el piso	No. de peces muertos	No. de marcas tenidas en cuenta	Marcas retenidas	Marcas desprendidas	Total	Marcas en el piso	No. de peces muertos	No. de marcas tenidas en cuenta
9 May	3	0	3	0	3.2	3.1	100	1	101	1	105.8	105.2
10	67	3	70	3	73.7	73.3	142	1	143	1	149.7	149.0
11	67	3	70	3	73.7	73.3	150	3	153	2	160.2	158.2
12	69	4	73	4	76.9	76.4	150	3	153	2	160.2	158.3
13	69	4	73	4	76.9	76.4	150	3	153	2	160.2	158.3
20	73	4	77	4	81.1	80.6	151	5	156	4	163.3	161.5
31	75	4	79	65	83.2	146.6	152	5	157	13	164.4	171.9
10 June	75	8	83	111	87.4	194.8	152	5	157	37	164.4	196.9
20	75	10	85	114	89.5	197.9	152	6	158	39	165.4	199.0
30	75	10	85	114	89.5	197.9	152	7	159	39	166.5	199.0
10 July	75	16	91	115	95.8	199.0	152	8	160	39	167.5	199.0
20	75	20	95	115	100.0	199.0	152	9	161	39	168.6	199.0
31	75	30	105	115	110.6	199.0	152	16	168	39	175.9	199.0
10 Aug.	75	45	120	116	126.3	200.0	152	27	179	39	187.4	199.0
20	75	67	142	116	149.5	200.0	152	35	187	39	195.8	199.0
23	—	—	—	—	—	—	152	39	191	40	200.0	200.0
31	75	96	171	116	180.0	200.0	—	—	—	—	—	—
10 Sep.	75	111	186	116	195.8	200.0	—	—	—	—	—	—
20	75	114	189	116	199.0	200.0	—	—	—	—	—	—
30	75	114	189	116	199.0	200.0	—	—	—	—	—	—
Number living at termination*	0	1	1	—	1.0	—	0	0	0	—	0.0	—
Number of fish accounted for**	75	115	190	—	200.0	—	152	39	191	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	75	—	—	116	—	200.0	152	—	—	40	—	200.0

**Table 5 (Continued)**

Experiment	3a, monofilament toggle						5a, spaghetti streamer					
	Number involved	200			206							
		Date initiated	9 May			6 May						
Date terminated	4 June			9 June								
Date	Recorded			Adjusted			Recorded			Adjusted		
	Number dead			Number dead			Number dead			Number dead		
	Tags re-tained	Tags shed	Total	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Tags re-tained	Tags shed	Total	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for
7 May	—	—	—	—	—	—	148	4	152	3	156.5	164.1
8	—	—	—	—	—	—	161	7	168	6	173.0	181.5
9	—	—	—	—	—	—	163	9	172	6	177.1	183.7
10	170	0	170	0	168.3	168.3	164	9	173	6	178.2	184.7
11	194	2	196	1	194.0	193.1	165	9	174	6	179.2	185.8
12	195	2	197	1	195.0	194.1	—	—	—	—	—	—
13	195	3	198	2	196.0	195.0	—	—	—	—	—	—
14	195	3	198	2	196.0	195.0	—	—	—	—	—	—
20	195	3	198	2	196.0	195.0	171	9	180	6	185.4	192.4
31	195	5	200	3	198.0	196.0	171	9	180	6	185.4	192.4
4 June	195	5	200	7	198.0	200.0	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	171	10	181	10	186.4	196.7
Number living at termination*	0	2	2	—	2.0	—	3	11	14	—	13.6	—
Number of fish accounted for**	195	7	202	—	200.0	—	174	21	195	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	195	—	—	7	—	200.0	174	—	—	10	—	200.0

Table 5 (Continued)

Experiment	6a, spaghetti loop						3b, monofilament toggle					
	Number involved	209			200							
		Date initiated	6 May			Date terminated	14 May			9 June	11 Sep.	
Date	Recorded	Adjusted			Recorded	Adjusted			Tags re-	Tags	Tags	Tags
		Number	dead	Tags		Number	dead	Tags	re-	shed	on	accounted
		Tags	retained	shed	Total	Tags	retained	shed	Tags	Total	floor	for
7 May	196	3	199	2	188.6	188.6	—	—	—	—	—	—
8	206	3	209	2	198.1	198.1	—	—	—	—	—	—
9	206	3	209	2	198.1	198.1	—	—	—	—	—	—
10	206	3	209	2	198.1	198.1	—	—	—	—	—	—
11	206	3	209	2	198.1	198.1	—	—	—	—	—	—
14	208	3	211	2	200.0	200.0	—	—	—	—	—	—
10 June	—	—	—	—	—	—	3	1	4	0	4.3	3.2
11	—	—	—	—	—	—	3	1	4	0	4.3	3.2
12	—	—	—	—	—	—	3	1	4	2	4.3	5.3
13	—	—	—	—	—	—	3	2	5	9	5.4	12.8
14	—	—	—	—	—	—	3	2	5	9	5.4	12.8
20	—	—	—	—	—	—	5	3	8	45	8.6	53.5
30	—	—	—	—	—	—	11	7	18	116	19.5	135.8
10 July	—	—	—	—	—	—	19	30	49	161	53.0	192.5
20	—	—	—	—	—	—	19	66	85	167	91.9	198.9
31	—	—	—	—	—	—	20	94	114	167	123.2	200.0
10 Aug.	—	—	—	—	—	—	20	115	135	167	145.9	200.0
20	—	—	—	—	—	—	20	136	156	167	168.6	200.0
31	—	—	—	—	—	—	20	153	173	167	187.0	200.0
10 Sep.	—	—	—	—	—	—	20	164	184	167	198.9	200.0
11	—	—	—	—	—	—	20	165	185	167	200.0	200.0
Number living at termination*	0	0	0	—	0.0	—	0	0	0	—	0.0	—
Number of fish accounted for**	208	3	211	—	200.0	—	20	165	185	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	208	—	—	2	—	200.0	20	—	—	167	—	200.0

**Table 5 (Continued)**

Experiment	4a, spaghetti streamer						6b, spaghetti loop					
	Number involved	200			200							
		Date initiated	9 June			Date terminated	9-10 June					
Date		Recorded			Adjusted		Recorded			Adjusted		
		Number dead			Tags on floor		Number dead			Tags on floor		
		Tags re-tained	Tags shed	Total	Number dead	Tags accounted for	Tags re-tained	Tags shed	Total	Number dead	Tags accounted for	
10 June	3	0	3	1	3.1	4.3	0	1	1	0	1.0	0.0
11	5	0	5	5	5.2	10.6	54	1	55	0	53.9	54.5
12	8	2	10	32	10.5	42.6	69	2	71	0	69.6	69.7
13	8	2	10	48	10.5	59.6	72	2	74	1	72.5	73.7
14	8	2	10	53	10.5	64.9	72	2	74	1	72.5	73.7
20	8	8	16	83	16.8	96.8	82	3	85	3	83.3	85.9
30	9	13	22	126	23.0	143.6	92	6	98	10	96.1	103.0
10 July	20	29	49	152	51.3	183.0	102	9	111	20	108.8	123.2
20	26	48	74	160	77.5	197.9	111	17	128	41	125.5	153.5
31	27	68	95	161	99.5	200.0	119	31	150	59	147.1	179.8
10 Aug.	27	93	120	161	125.7	200.0	122	37	159	68	155.9	191.9
20	27	126	153	161	160.3	200.0	124	44	168	72	164.7	198.0
29	27	141	168	161	176.0	200.0	—	—	—	—	—	—
31	—	—	—	—	—	—	124	54	178	73	174.5	199.0
10 Sep.	—	—	—	—	—	—	125	70	195	73	191.2	200.0
18	—	—	—	—	—	—	125	79	204	73	200.0	200.0
Number living at termination*	0	24	24	—	24.0	—	0	0	0	—	0.0	—
Number of fish accounted for*	27	165	192	—	200.0	—	125	79	204	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	27	—	—	161	—	200.0	125	—	—	73	—	200.0

Table 5 (Continued)

Experiment	5b, large internal				5c, small internal				5d, hydrostatic			
	Number involved	200			200	200			100			
		Date initiated	10 June			18 June				Date terminated	18 July	
Date terminated	13 June				17 July				29 Aug.			
Date	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted
	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for
	Number dead	Tags retained	Tags shed	Total	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for
11 June	160	0	160.0	160.0	—	—	—	—	—	—	—	—
12	197	0	197.0	197.0	—	—	—	—	—	—	—	—
13	200	0	200.0	200.0	—	—	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	185	0	185.9	185.9	—	—	—	—
20	—	—	—	—	197	0	198.0	198.0	—	—	—	—
21	—	—	—	—	197	0	198.0	198.0	—	—	—	—
22	—	—	—	—	197	0	198.0	198.0	—	—	—	—
23	—	—	—	—	197	0	198.0	198.0	—	—	—	—
30	—	—	—	—	198	0	199.0	199.0	—	—	—	—
10 July	—	—	—	—	198	0	199.0	199.0	—	—	—	—
17	—	—	—	—	198	0	199.0	199.0	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—	—	—	76	0	76	0
20	—	—	—	—	—	—	—	—	83	0	83	0
21	—	—	—	—	—	—	—	—	85	0	85	0
22	—	—	—	—	—	—	—	—	85	0	85	0
23	—	—	—	—	—	—	—	—	85	0	85	1
31	—	—	—	—	—	—	—	—	87	2	89	3
10 Aug.	—	—	—	—	—	—	—	—	88	7	95	8
20	—	—	—	—	—	—	—	—	89	9	98	9
29	—	—	—	—	—	—	—	—	89	10	99	9
Number living at termination*	0	—	0.0	—	1	—	1.0	—	0	1	1	—
Number of fish accounted for**	200	—	200.0	—	199	—	200.0	—	89	11	100	—
Number of tags accounted for***	—	0	—	200.0	—	0	—	200.0	89	—	—	200.0

Table 5 (Continued)

Experiment	4b, control	2b, braided toggle	5e, spaghetti toggle
Number involved	189	215	42
Date initiated	29 Aug.	29 Aug.	29 Aug.
Date terminated	28 Sep.	30 Sep.	20 Sep.

Date	Recorded		Adjusted		Recorded			Adjusted		Recorded			Adjusted	
	Number dead	Number dead	Number dead			Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Number dead			Tags on floor	Number dead	Tags accounted for
			Tags retained	Tags shed	Total				Tags retained	Tags shed	Total			
30 Aug.	34	38.0	75	0	75	1	69.8	71.0	13	0	13	1	66.7	63.6
31	66	73.7	101	3	104	5	96.7	99.1	17	2	19	1	97.4	81.8
1 Sep.	80	89.4	108	3	111	5	103.2	105.6	20	3	23	4	117.9	109.1
2	89	99.4	115	3	118	5	109.7	112.1	22	3	25	4	128.2	118.2
10	91	101.7	119	3	122	5	113.5	115.9	23	3	26	5	133.3	127.3
10	126	140.8	140	5	145	9	134.9	139.3	25	5	30	7	153.8	145.5
20	170	189.9	174	23	197	27	183.2	187.9	29	10	39	15	200.0	200.0
28	179	200.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	—	—	179	34	213	35	198.1	200.0	—	—	—	—	—	—
Number living at termination*	0	0.0	0	2	2	—	1.9	—	0	0	0	—	0.0	—
Number of fish accounted for**	179	200.0	179	36	215	—	200.0	—	29	10	39	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	—	—	179	—	—	35	—	200.0	29	—	—	15	—	200.0

\* Número de peces vivos al final

\*\* Número de peces tenidos en cuenta

\*\*\* Número de marcas tenidas en cuenta

TABLE 6. Detailed data on mortalities and shedding of tags for the 1959 live-box experiments. All the figures are cumulative.  
 TABLA 6. Detalle de los datos sobre la mortalidad y el desprendimiento de las marcas en los experimentos en viveros durante 1959. Todas las cantidades son acumulativas.

Experiment Experimento	lb, control			2c, braided toggle tag			3c, Atkins tag									
	Number involved Número implicado	200			200			200								
		Date initiated Fecha inicial	18 May			Date terminated Fecha en que se terminó	20 July			8 June						
	Recorded		Adjusted		Recorded		Adjusted		Recorded		Adjusted					
Date	Number dead	Number dead	Number dead		Tags on floor		Number dead	Tags accounted for	Number dead		Tags on floor					
	Registrado	Ajustado	Registrado		Ajustado		Registrado	Ajustado	Registrado		Ajustado					
Fecha	No. de peces muertos	No. de peces muertos	No. de peces muertos		Marcas retenidas	Marcas despren-didas	Total	Marcas en el piso	No. de peces muertos	No. de marcas tenidas en cuenta	Marcas retenidas	Marcas despren-didas	Total	Marcas en el piso	No. de peces muertos	No. de marcas tenidas en cuenta
19 May	0	0.0	8	0	8	0	8.2	8.2	1	0	1	0	0.9	1.1		
20	1	1.0	9	0	9	0	9.3	9.2	1	0	1	2	0.9	3.2		
21	2	2.1	10	0	10	0	10.3	10.3	2	1	3	2	2.6	4.2		
22	2	2.1	10	0	10	0	10.3	10.3	2	1	3	3	2.6	12.7		
23	2	2.1	10	0	10	0	10.3	10.3	2	1	3	3	2.6	30.8		
31	4	4.2	10	0	10	11	10.3	21.5	5	2	7	94	6.0	105.0		
8 June	—	—	—	—	—	—	—	—	5	2	7	127	6.0	140.0		
10	6	6.3	11	0	11	80	11.3	93.3	—	—	—	—	—	—		
20	16	16.8	14	12	26	154	26.8	172.3	—	—	—	—	—	—		
30	21	22.0	14	13	27	177	27.8	195.9	—	—	—	—	—	—		
10 July	41	43.0	14	18	32	179	32.9	197.9	—	—	—	—	—	—		
20	52	54.5	14	20	34	181	35.0	200.0	—	—	—	—	—	—		
31	87	91.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
10 Aug.	137	143.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
20	172	180.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
31	180	188.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
10 Sep.	180	188.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
20	180	188.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
30	180	188.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
10 Oct.	180	188.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
20	182	190.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
31	182	190.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
10 Nov.	184	193.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
20	184	193.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
30	184	193.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
10 Dec.	184	193.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
20	184	193.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
22	185	194.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Number living at termination*	6	6.0	0	165	165	—	165.0	—	60	134	194	—	194.0	—		
Number of fish accounted for**	191	200.0	14	185	199	—	200.0	—	65	136	201	—	200.0	—		
Number of tags accounted for***	—	—	14	—	—	181	—	200.0	65	—	—	127	—	200.0		

**Table 6 (Continued)**

Experiment	7a, opercle tag	8a, clip-on tag
Number involved	200	200
Date initiated	19 May	18 May
Date terminated	8 June	20 July

Date	Recorded			Adjusted			Recorded			Adjusted		
	Number dead			Tags on floor	Number dead	Tags ac- counted for	Number dead			Tags on floor	Number dead	Tags ac- counted for
	Tags re- tained	Tags shed	Total				Tags re- tained	Tags shed	Total			
19 May	—	—	—	—	—	—	1	0	1	0	1.1	1.1
20	2	0	2	24	2.2	26.7	4	0	4	0	4.3	4.3
21	2	0	2	43	2.2	46.2	7	0	7	0	7.6	7.6
22	2	0	2	66	2.2	69.8	7	0	7	1	7.6	8.6
23	4	0	4	85	4.4	91.3	8	0	8	1	8.6	9.7
24	5	2	7	108	7.6	116.0	—	—	—	—	—	—
31	5	4	9	178	9.8	187.8	11	0	11	18	11.9	31.3
8 June	5	6	11	185	12.0	195.0	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	19	1	20	57	21.6	82.0
20	—	—	—	—	—	—	33	22	55	108	59.5	152.2
30	—	—	—	—	—	—	34	29	63	123	68.1	169.5
10 July	—	—	—	—	—	—	36	37	73	134	78.9	183.5
20	—	—	—	—	—	—	37	37	74	139	80.0	190.0
Number living at termination*	5	183	188	—	188.0	—	10	110	120	—	120.0	—
Number of fish accounted for**	10	189	199	—	200.0	—	47	147	194	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	10	—	—	185	—	200.0	47	—	—	139	—	200.0

Table 6 (Continued)

Experiment Number involved Date initiated Date terminated	5f, internal tag			4c, trypan blue mark			6c, latex mark	
	200 19 May 22 Dec.		Adjusted Number dead	200 18 May 5 Nov.		Adjusted Number dead	200 19 May 8 June	
Date	Recorded Number dead	Tags on floor	Adjusted Number dead	Recorded Number dead	Adjusted Number dead	Recorded Number dead	Adjusted Number dead	
19 May	—	—	—	82	82.4	—	—	
20	0	0	0	82	82.4	1	0.9	
21	3	—	3.0	82	82.4	1	0.9	
22	6	0	6.1	82	82.4	1	0.9	
23	7	0	7.1	82	82.4	2	1.8	
24	8	0	8.1	—	—	2	1.8	
31	16	0	16.2	83	83.4	9	8.0	
8 June	—	—	—	—	—	—	8.0	
10	21	1	21.2	86	86.4	—	—	
20	28	6	28.3	100	100.5	—	—	
30	31	86	31.4	100	100.5	—	—	
10 July	34	93	34.4	104	104.5	—	—	
20	36	94	36.4	118	118.6	—	—	
31	37	94	37.4	135	135.7	—	—	
10 Aug.	47	94	47.6	178	178.9	—	—	
20	62	96	62.7	195	196.0	—	—	
31	76	98	76.9	198	199.0	—	—	
10 Sep.	91	100	92.1	198	199.0	—	—	
20	100	102	101.2	198	199.0	—	—	
30	115	102	116.4	198	199.0	—	—	
10 Oct.	125	102	126.5	198	199.0	—	—	
20	138	102	139.6	198	199.0	—	—	
31	141	102	142.7	198	199.0	—	—	
5 Nov.	—	—	—	199	200.0	—	—	
10	146	102	147.7	—	—	—	—	
20	156	104	157.8	—	—	—	—	
30	164	106	165.9	—	—	—	—	
10 Dec.	166	106	168.0	—	—	—	—	
20	168	106	170.0	—	—	—	—	
22	170	107	172.0	—	—	—	—	
Number living at termination*	28	—	28.0	0	0.0	192	192.0	
Number of fish accounted for**	198	—	200.0	199	200.0	201	200.0	
Number of tags accounted for***	—	107	—	—	—	—	—	

**Table 6 (Continued)**

Experiment	6d, control			9a, disk tag			10a, hydrostatic tag							
Number involved	200			16			99							
Date initiated	15 June			15 June			15 June							
Date terminated	7 Aug.			13 July			13 July							
Date	Recorded	Adjusted		Recorded		Adjusted	Recorded		Adjusted					
	Number dead	Number dead		Number dead			Number dead							
				Tags retained	Tags shed	Total	Tags on floor							
16 June	2	2.4	0	0	0	0	0.0	0.0	1	0	1	0	2.7	2.0
17	4	4.8	0	2	2	0	25.0	0.0	1	0	1	0	2.7	2.0
18	5	6.0	0	2	2	0	25.0	0.0	1	1	2	3	5.4	8.2
19	6	7.2	0	2	2	0	25.0	0.0	1	1	2	21	5.4	44.9
20	6	7.2	0	2	2	0	25.0	0.0	1	1	2	31	5.4	65.3
30	8	9.6	0	2	2	7	25.0	116.7	1	3	4	80	10.8	165.3
10 July	10	12.1	1	3	4	11	50.0	200.0	2	4	6	93	16.2	193.9
13	—	—	1	4	5	11	62.5	200.0	2	4	6	95	16.2	198.0
20	11	13.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	17	20.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 Aug.	23	27.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	39	47.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Number living at termination*	153	153.0	0	11	11	—	137.5	—	1	90	91	—	183.8	—
Number of fish accounted for**	192	200.0	1	15	16	—	200.0	—	3	94	97	—	200.0	—
Number of tags accounted for***	—	—	1	—	—	11	—	200.0	3	—	—	95	—	200.0

Table 6 (Continued)

Experiment	3d, trypan red mark	7b, fast green FCF mark	11a, ferric oxide mark	12a, cadmium sulfide mark
Number involved	200	200	200	200
Date initiated	15 June	15 June	16 June	16 June
Date terminated	22 Dec.	22 Dec.	15 July	15 July
	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted
Date	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead
16 June	7	7.4	7	7.1
17	22	23.3	19	19.2
18	29	30.7	19	19.2
19	34	36.0	19	19.2
20	38	40.2	19	19.2
21	—	—	—	12
30	47	49.7	24	24.3
10 July	53	56.1	25	25.3
15	—	—	—	18
20	57	60.3	30	30.3
31	61	64.5	33	33.4
10 Aug.	74	78.3	45	45.5
20	124	131.2	62	62.7
31	163	172.5	87	88.0
10 Sep.	167	176.7	97	98.1
20	167	176.7	101	102.1
30	167	176.7	108	109.2
10 Oct.	167	176.7	116	117.3
20	170	179.9	155	156.7
31	170	179.9	162	163.8
10 Nov.	170	179.9	165	166.9
20	170	179.9	166	167.9
30	171	180.9	173	174.9
10 Dec.	172	182.0	177	179.0
20	172	182.0	177	179.0
22	172	182.0	178	180.0
Number living at termination*	18	18.0	20	20.0
Number of fish accounted for**	190	200.0	198	200.0
Numer of tags accounted for***	—	—	—	—

Table 6 (Continued)

Experiment	11b, control		2d, control- quinaldine		8b, internal tag-quinaldine		9b, Rhodamine 6 GDN extra mark		10b, Thiazine red R mark		12b, Brilliant acid yellow 8G mark		
Number involved	200		200		200		200		200		200		
Date initiated	20 July		20 July		20 July		20 July		20 July		20 July		
Date terminated	10 Aug.		22 Dec.		22 Dec.		10 Aug.		10 Aug.		10 Aug.		
Date	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Tags on floor	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted
	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead		Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead
21 July	0	0.0	4	4.2	24	0	22.6	125	122.2	2	2.0	3	1.9
22	0	0.0	12	12.5	54	0	50.9	176	172.1	3	3.0	4	2.5
23	0	0.0	15	15.7	64	0	60.3	178	174.1	3	3.0	5	3.1
24	1	1.0	17	17.8	70	1	65.9	179	175.0	4	4.0	6	3.8
25	2	2.0	19	19.9	71	2	66.9	179	175.0	5	5.0	6	3.8
31	4	4.0	22	23.0	81	16	76.3	180	176.0	5	5.0	8	5.0
10 Aug.	7	7.0	46	48.1	93	32	87.6	181	177.0	8	8.0	8	5.0
20	—	—	97	101.4	116	42	109.2	—	—	—	—	—	—
31	—	—	132	138.0	122	44	114.9	—	—	—	—	—	—
10 Sep.	—	—	139	145.4	131	55	123.4	—	—	—	—	—	—
20	—	—	140	146.4	137	55	129.0	—	—	—	—	—	—
30	—	—	144	150.6	140	55	131.9	—	—	—	—	—	—
10 Oct.	—	—	146	152.7	141	55	132.8	—	—	—	—	—	—
20	—	—	146	152.7	152	55	143.2	—	—	—	—	—	—
31	—	—	147	153.7	155	55	146.0	—	—	—	—	—	—
10 Nov.	—	—	151	157.9	158	55	148.8	—	—	—	—	—	—
20	—	—	160	167.3	161	56	151.6	—	—	—	—	—	—
30	—	—	169	176.7	170	56	160.1	—	—	—	—	—	—
10 Dec.	—	—	173	180.9	179	59	168.6	—	—	—	—	—	—
20	—	—	175	183.0	186	63	175.2	—	—	—	—	—	—
22	—	—	175	183.0	189	63	178.0	—	—	—	—	—	—
Number living at termination*	193	193.0	17	17.0	22	—	22.0	23	23.0	192	192.0	195	195.0
Number of fish accounted for**	200	200.0	192	200.0	211	—	200.0	204	200.0	200	200.0	203	200.0
Number of tags accounted for***	—	—	—	—	—	63	—	—	—	—	—	—	—

Table 6 (Continued)

Experiment	11c, control		12c, control-MS 222		6e, dart tag						9c, internal tag-anterior			10c, internal tag-posterior				
Number involved	100		100		85						200			200				
Date initiated	17 Aug.		17 Aug.		17 Aug.						17 Aug.			17 Aug.				
Date terminated	22 Dec.		22 Dec.		22 Dec.						22 Dec.			22 Dec.				
Date	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded			Adjusted			Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted		
	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead			Tags re-tained	Tags shed	Total	Tags on floor	Number dead	Tags accounted for	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
18 Aug.	0	0.0	0	0.0	2	0	2	0		5.0	5.3	0	0	0.0	0	0	0.0	
19	2	4.3	0	0.0	2	1	3	1		7.5	7.9	3	0	3.1	2	0	2.5	
20	2	4.3	0	0.0	4	2	6	2		15.1	15.8	3	0	3.1	5	0	6.1	
21	6	12.9	0	0.0	6	2	8	6		20.1	31.6	4	4	4.2	7	0	8.6	
22	6	12.9	1	2.1	6	2	8	6		20.1	31.6	4	6	4.2	7	0	8.6	
31	21	45.2	6	12.4	8	5	13	34		32.7	110.5	27	30	28.1	43	49	52.8	
10 Sep.	31	66.6	13	26.8	10	8	18	55		45.2	171.1	35	51	36.5	61	76	74.9	
20	35	75.2	19	39.1	12	10	22	61		55.3	192.1	42	61	43.8	74	83	90.9	
30	38	81.7	24	49.4	12	21	33	62		82.9	194.7	55	62	57.3	79	86	97.0	
10 Oct.	46	98.9	28	57.7	12	29	41	64		103.0	200.0	75	64	78.1	90	87	110.5	
20	52	111.8	42	86.5	12	32	44	64		110.5	200.0	100	65	104.2	141	87	173.1	
31	53	114.0	45	92.7	12	40	52	64		130.5	200.0	110	65	114.6	143	88	175.6	
10 Nov.	55	118.2	48	98.9	12	48	60	64		150.7	200.0	125	66	130.2	146	88	179.3	
20	60	129.0	54	111.2	12	54	66	64		165.8	200.0	143	66	149.0	151	89	185.4	
30	74	159.1	65	133.9	12	57	69	64		173.3	200.0	161	67	167.7	156	89	191.5	
10 Dec.	79	169.8	67	138.0	12	62	74	64		185.9	200.0	167	68	174.0	158	89	194.0	
20	80	172.0	67	138.0	12	62	74	64		185.9	200.0	167	68	174.0	158	89	194.0	
22	80	172.0	67	138.0	12	62	74	64		185.9	200.0	167	68	174.0	158	89	194.0	
Number living at termination*	14	28.0	31	62.0	0	6	6	—		14.1	—	26	—	26.0	6	—	6.0	
Number of fish accounted for**	94	200.0	98	200.0	12	68	80	—		200.0	—	193	—	200.0	164	—	200.0	
Number of tags accounted for***	—	—	—	—	12	—	—	64	—	200.0	—	68	—	164	89	—	—	

**Table 6. (Continued)**

Experiment	1b, control		5f, internal tag		2d, control-quinaldine		8b, internal tag-quinaldine	
Number involved	200		200		200		200	
Date initiated	18 May		19 May		20 July		20 July	
Date terminated	22 Dec.		22 Dec.		22 Dec.		22 Dec.	
Date	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted
	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead	Tags accounted for	Number dead	Number dead	Number dead
May	4	4.2	16	16.2	0.0	—	—	—
June	21	22.0	31	31.4	104.7	—	—	—
July	87	91.2	37	37.4	115.7	—	—	—
21-31 July	—	—	—	—	22	23.0	81	76.3
1-9 Aug.	131	137.4	46	46.5	116.9	38	39.7	87.6
10	137	143.7	47	47.6	116.9	46	48.1	87.6
11-16	171	179.3	58	58.7	120.6	78	81.6	104.5
17	171	179.3	59	59.7	123.0	81	84.7	106.4
18-22	174	182.5	65	65.8	125.4	102	106.7	109.2
23-31	180	188.8	76	76.9	130.3	132	138.0	114.9
1-17 Sep.	180	188.8	99	100.2	149.8	140	146.4	128.1
18-22	180	188.8	102	103.2	153.5	141	147.4	130.9
23-30	180	188.8	115	116.4	157.1	144	150.6	131.9
1-6 Oct.	180	188.8	120	121.4	162.0	144	150.6	132.8
7-23	182	190.9	139	140.6	174.2	147	153.7	145.0
24 Oct.-2 Nov.	183	191.9	142	143.7	175.4	147	153.7	146.0
3-14	184	193.0	150	151.8	177.8	152	158.9	148.8
15-27	184	193.0	161	162.9	186.3	165	172.5	159.2
28 Nov.-22 Dec.	185	194.0	170	172.0	190.0	175	183.0	178.0
Number living at termination*	6	6.0	28	28.0	—	17	17.0	22
Number of fish accounted for**	191	200.0	198	200.0	—	192	200.0	200.0
Number of tags accounted for***	—	—	—	—	200.0	—	—	200.0

Table 6 (Continued)

Experiment	11c, control		9c, internal tag-anterior			10c, internal tag-posterior		
	Number involved	100	Number dead	200	Number dead	200	Number dead	200
Date initiated	17 Aug.		17 Aug.		17 Aug.		17 Aug.	
Date terminated	22 Dec.		22 Dec.		22 Dec.		22 Dec.	
Date	Recorded	Adjusted	Recorded	Adjusted	Tags ac- counted for	Recorded	Adjusted	Tags ac- counted for
	Number dead	Number dead	Number dead	Number dead		Number dead	Number dead	Tags ac- counted for
18-22 Aug.	6	12.9	4	4.2	9.7	7	8.6	7.6
23-31	21	45.2	27	28.1	55.9	43	52.6	83.3
1-17 Sep.	34	73.1	41	42.7	88.2	69	84.7	133.1
18-22	37	79.6	43	44.8	93.6	75	92.1	138.5
23-30	38	81.7	55	57.3	104.3	79	97.0	144.0
1-6 Oct.	43	92.4	67	69.8	110.8	85	104.4	150.5
7-23	53	114.0	100	104.2	138.7	142	174.4	180.8
24 Oct.-2 Nov.	53	114.0	114	118.8	143.1	143	175.6	181.8
3-14	56	120.4	131	136.5	158.1	148	181.7	185.1
15-27	69	148.4	155	161.5	176.4	154	189.1	193.8
28 Nov.-22 Dec.	80	172.0	167	174.0	185.0	158	194.0	197.0
Number living at termination*	14	28.0	26	26.0	—	6	6.0	—
Number of fish accounted for**	94	200.0	193	200.0	—	164	200.0	—
Number of tags accounted for***	—	—	—	—	200.0	—	—	200.0

\* Número de peces vivos al final

\*\* Número de peces tenidos en cuenta

\*\*\* Número de marcas tenidas en cuenta

**TABLE 7. Detailed data on mortalities and shedding of tags for the 1960 live-box experiments. All the figures are cumulative.**  
**TABLA 7. Detalle de los datos sobre la mortalidad y el desprendimiento de las marcas en los experimentos en viveros durante 1960.**  
Todas las cantidades son acumulativas.

Experiment Experimento	4d, control	6f, internal	5g, internal- antibiotics	7c, control- MS 222	11d, internal- MS 222	10d, internal- MS 222-antibiotics
Number involved Número implicado	190	190	190	190	190	190
Date initiated Fecha inicial	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May
Date terminated Fecha en que se terminó	26 May	26 May	26 May	26 May	26 May	26 May
Date	Number dead	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
Fecha	No. de peces muertos	No. de peces muertos	Marcas en el piso	No. de peces muertos	Marcas en el piso	No. de peces muertos
12 May	9	14	0	16	0	28
13	30	52	0	61	0	48
14	80	120	0	115	1	89
15	127	165	1	161	5	144
16	129	167	3	162	5	146
17	129	168	3	163	5	148
18	129	169	3	163	5	150
20	129	171	3	164	5	152
26	129	172	8	165	8	154
Number living at termination*	58	17	—	25	—	19
Number of fish accounted for**	187	189	—	190	—	170
Number of tags accounted for***	—	—	8	—	8	—
						17

Table 7 (Continued)

Experiment	2e, control-Dormison	12d, internal-Dormison	1c, internal-Dormison-antibiotics	3e, control-amyl alcohol	8c, internal-amyl alcohol	9d, internal-amyl alcohol-antibiotics
Number involved	190	190	190	190	190	190
Date initiated	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May	11-13 May
Date terminated	24 May	26 May	26 May	23 May	26 May	26 May
Date	Number dead	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
12 May	10	29	2	28	1	8
13	34	80	2	81	1	40
14	86	112	2	133	1	85
15	141	155	3	178	4	127
16	143	157	3	184	6	132
17	143	157	6	185	6	135
18	144	157	7	185	7	135
20	144	158	8	187	7	135
23	—	—	—	—	—	136
24	144	—	—	—	—	—
26	—	160	15	189	9	—
Number living at termination*	54	18	—	12	—	54
Number of fish accounted for**	198	178	—	201	—	190
Number of tags accounted for***	—	—	15	—	9	—
						10
						—
						22
						—
						190
						—
						208
						—
						4
						—
						12

**Table 7 (Continued)**

Experiment	4e, control	6g, internal	5h, internal-antibiotics	7d, control-MS 222	11e, internal-MS 222	10e, internal-MS 222-antibiotics
Date initiated	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May
Date terminated	1 July	1 Sep.	1 Sep.	1 July	1 Sep.	1 Sep.
Date	Number dead	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
28 May	1	4	0	6	0	4
29	8	29	0	37	1	27
30	58	85	1	102	1	85
31	86	109	2	115	2	100
1 June	87	109	2	115	2	102
2	87	109	5	115	2	102
3	87	109	7	115	2	103
10	88	112	20	117	11	104
20	93	114	26	118	15	106
30	100	116	30	119	18	108
1 July	100	—	—	—	108	—
10	—	118	30	123	18	128
20	—	119	32	124	19	131
31	—	119	34	125	21	131
10 Aug.	—	123	35	127	21	134
20	—	123	35	132	21	139
31	—	124	36	134	21	152
1 Sep.	—	124	36	134	21	153
Number living at termination*	57	34	—	25	—	3
Number of fish accounted for**	157	158	—	159	—	164
Number of tags accounted for***	—	—	36	—	21	—
						26
						150
						149
						29

Table 7 (Continued)

Experiment	2f, control-Dormison	12e, internal-Dormison	1d, internal-Dormison-antibiotics	3f, control-amyl alcohol	8d, internal-amyl alcohol	9e, internal-amyl alcohol-antibiotics
Number involved	165	165	165	165	165	165
Date initiated	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May	27-29 May
Date terminated	30 June	30 June	30 June	27 June	30 June	30 June
Date	Number dead	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
28 May	4	4	0	6	1	5
29	41	48	0	48	4	29
30	107	118	1	111	5	91
31	123	129	2	129	5	116
1 June	124	130	4	130	9	117
2	125	131	5	130	10	117
3	125	131	9	130	10	117
10	125	133	14	132	15	119
20	125	134	19	135	20	120
27	—	—	—	—	—	122
30	127	134	20	137	22	—
Number living at termination*	30	25	—	26	—	40
Number of fish accounted for**	157	159	—	163	—	162
Number of tags accounted for***	—	—	20	—	22	—
						32
						32
						50
						—
						176
						—
						16
						—
						19

**Table 7 (Continued)**

Experiment	3g, control	2g, internal	1e, internal-antibiotics	12f, control-MS 222	8e, internal-MS 222	9f, internal-MS 222-antibiotics	4f, control	7e, circumvertebral
Date initiated	30 June	30 June	30 June	30 June	30 June	30 June	6 July	6 July
Date terminated	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.	1 Sep.
Date	Number dead	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead	Tags on floor	Number dead
1 July	15	17	2	26	2	21	22	3
2	27	47	2	42	2	28	44	3
3	35	55	2	54	2	33	57	3
4	36	56	2	54	2	33	61	3
5	36	58	2	58	2	33	66	3
7	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—	—
10	39	63	2	59	2	35	75	3
11	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	66	22	61	16	35	79	34
31	42	74	25	66	24	35	82	44
10 Aug.	59	77	25	73	24	35	84	44
20	73	80	25	90	24	41	85	46
31	93	94	26	100	37	57	88	47
1 Sep.	93	94	26	100	37	58	89	47
Number living at termination*	25	41	—	31	—	54	58	—
Number of fish accounted for**	118	135	—	131	—	112	147	—
Number of tags accounted for***	—	—	26	—	37	—	47	—
								43
								—
								78

\* Número de peces vivos al final

\*\* Número de peces tenidos en cuenta

\*\*\* Número de marcas tenidas en cuenta

**TABLE 8. Comparisons of the mortalities of control and tagged fish in 1960 during the first 3 days after each experiment was initiated.**

**TABLA 8. Comparación de la mortalidad de los peces de control y de los marcados en 1960 durante los 3 primeros días después de que comenzó cada experimento.**

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May		30 June		Total Mort.
	Exper.	Mort.	Exper.	Mort.	Exper.	Mort.	
Control	4d, 7c, 2e, 3e	536.1	4e, 7d, 2f, 3f	443.4	3g, 12f	111.8	1091.3
Tagged Marcados	6f, 5g, 11d, 10d, 12d, 1c, 8c, 9d	1329.3	6g, 5h, 11e, 10e, 12e, 1d, 8d, 9e	999.5	2g, 1e, 8e, 9f	271.6	2600.4
Total		1865.4		1442.9		383.4	3691.7

**TABLE 9. Comparisons of the survivals of control and tagged fish in 1960.**

**TABLA 9. Comparación de la supervivencia de los peces de control y de los marcados en 1960.**

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May (to 30 June)		30 June		Total Surv.
	Exper.	Surv.	Exper.	Surv.	Exper.	Surv.	
Control	4d, 7c, 2e, 3e	200	4e, 7d, 2f, 3f	183	3g, 12f	79	462
Tagged Marcados	6f, 5g, 11d, 10d, 12d, 1c, 8c, 9d	143	6g, 5h, 11e, 10e, 12e, 1d 8d, 9e	267.6	2g, 1e, 8e, 9f	157	567.6
Total		343		540.6		236	1029.6

**TABLE 10. Comparisons of the mortalities of control and anesthetized fish in 1960 during the first 3 days after each experiment was initiated.**

**TABLA 10. Comparación de la mortalidad de los peces de control y de los anestesiados en 1960 durante los 3 primeros días después de que comenzó cada experimento.**

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May		Total Mort.
	Exper.	Mort.	Exper.	Mort.	
<b>Untagged — No marcados</b>					
Control	4d	130.0	4e	92.9	222.9
MS 222	7c	145.9	7d	100.9	246.8
Dormison	2e	133.2	2f	130.7	263.9
Amyl alcohol	3e	127.0	3f	118.9	245.9
<b>Tagged — Marcados</b>					
Control	6f, 5g	327.0	6g, 5h	235.3	562.3
MS 222	11d, 10d	326.9	11e, 10e	260.1	587.0
Dormison	12d, 1c	334.2	12e, 1d	265.7	599.9
Amyl alcohol	8c, 9d	341.2	8d, 9e	238.4	579.6
<b>Total</b>					
Control		457.0		328.2	785.2
MS		472.8		361.0	833.8
Dormison		467.4		396.4	863.8
Amyl alcohol		468.2		357.3	825.5
<b>Grand total</b>		<b>1865.4</b>		<b>1442.9</b>	<b>3308.3</b>

TABLE 11. Comparisons of the survivals of control and anesthetized fish in 1960.

TABLA 11. Comparación de la supervivencia de los peces de control y de los anestesiados en 1960

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May (to 30 June)		Total Surv.
	Exper.	Surv.	Exper.	Surv.	
<b>Untagged — No marcados</b>					
Control	4d	58	4e	57	115
MS 222	7c	34	7d	56	90
Dormison	2e	54	2f	30	84
Amyl alcohol	3e	54	3f	40	94
<b>Tagged — Marcados</b>					
Control	6f, 5g	42	6g, 5h	83.2	125.2
MS 222	11d, 10d	39	11e, 10e	51.4	90.4
Dormison	12d, 1c	30	12e, 1d	51	81
Amyl alcohol	8c, 9d	32	8d, 9e	82	114
<b>Total</b>					
Control		100		140.2	240.2
MS 222		73		107.4	180.4
Dormison		84		81	165
Amyl alcohol		86		122	208
<b>Grand total</b>		<b>343</b>		<b>450.6</b>	<b>793.6</b>

TABLE 12. Comparisons of the mortalities of control and anesthetized fish in 1960 during the first 3 days after each experiment was initiated.

TABLA 12. Comparación de la mortalidad de los peces de control y de los anestesiados en 1960 durante los 3 primeros días después de que se comenzó cada experimento.

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May		30 June		Total Mort.
	Exper.	Mort.	Exper.	Mort.	Mort.	Exper.	
<b>Untagged — No marcados</b>							
Control	4d	130.0	4e	92.9	3g	51.5	274.4
MS 222	7c	145.9	7d	100.9	12f	60.3	307.1
<b>Tagged — Marcados</b>							
Control	6f, 5g	327.0	6g, 5h	235.3	2g, 1e	138.3	700.6
MS 222	11d, 10d	326.9	11e, 10e	260.1	8e, 9f	133.3	720.3
<b>Total</b>							
Control		457.0		328.2		189.8	975.0
MS 222		472.8		361.0		193.6	1027.4
<b>Grand total</b>		<b>929.8</b>		<b>689.2</b>		<b>383.4</b>	<b>2002.4</b>

TABLE 13. Comparisons of the survivals of control and anesthetized fish in 1960.

TABLA 13. Comparación de la supervivencia de los peces de control y de los anestesiados en 1960.

Date initiated Fecha inicial	11-13 May		27-29 May		30 June		Total Surv.
	Exper.	Surv.	Exper.	Surv.	Exper.	Surv.	
<b>Untagged — No marcados</b>							
Control	4d	58	4e	57	3g	25	140
MS 222	7c	34	7d	56	12f	54	144
<b>Tagged — Marcados</b>							
Control	6f, 5g	42	6g, 5h	59	2g, 1e	72	173
MS 222	11d, 10d	39	11e, 10e	4	8e, 9f	85	128
<b>Total</b>							
Control		100		116		97	313
MS 222		73		60		139	272
<b>Grand total</b>		<b>173</b>		<b>176</b>		<b>236</b>	<b>585</b>

**TABLE 14.** Comparisons of the mortalities of control fish and fish treated with antibiotics in 1960 during the first 3 days after each experiments was initiated.

**TABLA 14.** Comparación de la mortalidad de los peces de control y de los tratados con antibióticos en 1960 durante los 3 primeros días después de que se comenzó cada experimento.

Date initiated Fecha inicial	11-13 May Exper.	Mort.	27-29 May Exper.	Mort.	30 June Exper.	Mort.	Total Mort.
Control	6f, 11d, 12d, 8c	677.5	6g, 11e, 12e, 8d	508.2	2g, 8e	133.8	1319.5
Treated with antibiotics*	5g, 10d, 1c, 9d	651.8	5h, 10e, 1d, 9e	491.3	1e, 9f	123.5	1266.6
Total		1329.3		999.5		257.3	2586.1

\*Tratados con antibióticos

**TABLE 15.** Comparisons of the mortalities of control fish and fish treated with antibiotics in 1960 from the fourth day to the end of the experiments.

**TABLA 15.** Comparación de la mortalidad de los peces de control y de los tratados con antibióticos en 1960 desde el cuarto día hasta el final de los experimentos.

Date initiated Fecha inicial	11-13 May Exper.	Mort.	27-29 May Exper.	Mort.	30 June Exper.	Mort.	Total Mort.
Control	6f, 11d, 12d, 8c	18.5	6g, 11e, 12e, 8d	57.8	2g, 8e	85.2	161.5
Treated with antibiotics*	5g, 10d, 1c, 9d	29.2	5h, 10e, 1d, 9e	66.7	1e, 9f	136.5	232.4
Total		47.7		124.5		221.7	393.9

\*Tratados con antibióticos

**TABLE 16.** Comparisons of the survivals of control fish and fish treated with antibiotics in 1960.

**TABLA 16.** Comparación de la supervivencia de los peces de control y de los tratados con antibióticos en 1960.

Date initiated Fecha inicial	11-13 May Exper.	Surv.	27-29 May Exper.	Surv.	30 June Exper.	Surv.	Total Surv.
Control	6f, 11d, 12d, 8c	64	6g, 11e, 12e, 8d	94	2g, 8e	99	257
Treated with antibiotics*	5g, 10d, 1c, 9d	79	5h, 10e, 1d, 9e	102	1e, 9f	58	239
Total		143		196		157	496

\*Tratados con antibióticos

**TABLE 17.** Mortalities of untagged fish occurring the first few days after capture in 1956.

**TABLA 17.** Mortalidad de los peces no marcados que ocurrió durante los primeros días de la captura en 1958.

Days after capture  Días después de la captura	Date caught 28 August  Fecha de la captura 28 de agosto		Number confined about 197  No. de peces confinados más o menos 197  Number dead  Número de peces muertos
	Date	Fecha	
1	29 Aug.		about 8
2	30		34
3	31		32
4	1 Sep.		14
5	2		9
6	3		2
7	4		3
Total			about 102

TABLE 18. Mortalities of untagged fish occurring the first few days after capture in 1959.

TABLA 18. Mortalidad de los peces no marcados que ocurrió durante los primeros días después de la captura en 1959.

Days after capture	Date caught 11-13 May		Number confined 3,443	Date caught 8-10 June		Number confined 1,878
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 11-13 Mayo	No. de peces confinados 3,443		Fecha de la captura 8-10 Junio	No. de peces confinados 1,878	
1	12 May	188		9 June	6	
2	13	121		10	48	
3	14	508		11	128	
4	15	187		12	142	
5	16	15		13	27	
6	17	7		14	5	
7	18	6		15	5	
8	19	3		16	2	
Total		1,035			363	
Days after capture	Date caught 13, 15 July		Number confined 1,422	Date caught 10-11 Aug.		Number confined 1,052
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 13, 15 Julio	No. de peces muertos		Fecha	No. de peces muertos	
1	14 July	8		11 Aug.	62	
2	15	1		12	126	
3	16	21		13	107	
4	17	31		14	34	
5	18	13		15	13	
6	19	4		16	4	
7	20	4		17	6	
Total		82			352	

TABLE 19. Mortalities of untagged fish occurring the first few days after capture in 1960.

TABLA 19. Mortalidad de los peces no marcados que ocurrió durante los primeros días después de la captura en 1960.

Days after capture	Date caught 11-13 May		Number confined 190	Date caught 23 May		Number confined 300
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 11-13 Mayo	No. de peces muertos		Fecha	No. de peces muertos	
1	12 May	9		24 May	2	
2	13	21		25	7	
3	14	50		26	1	
4	15	47		—	—	
5	16	2		—	—	
6	17	0		—	—	
7	18	0		—	—	
8	19	0		—	—	
Total		129			10	
Days after capture	Date caught 24 May		Number confined 300	Date caught 27-29 May		Number confined 165
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 24 Mayo	No. de peces muertos		Fecha	No. de peces muertos	
1	25 May	5		28 May	1	
2	26	22		29	7	
3	—	—		30	50	
4	—	—		31	28	
5	—	—		1 June	1	
6	—	—		2	0	
7	—	—		3	0	
8	—	—		4	0	
Total		27			87	
Days after capture	Date caught 27 June		Number confined 300	Date caught 30 June		Number confined 158
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 27 Junio	No. de peces muertos		Fecha	No. de peces muertos	
1	28 June	285		1 July	15	
2	29	7		2	12	
3	30	2		3	8	
4	—	—		4	1	
5	—	—		5	0	
6	—	—		6	3	
7	—	—		7	0	
Total		294			39	
Days after capture	Date caught 1 July		Number confined 700	Date caught		Number confined
	Date	Number dead		Date	Number dead	
	Fecha de la captura 1 Julio	No. de peces muertos		Fecha	No. de peces muertos	
1	2 July	31		—	—	
2	3	51		—	—	
3	4	27		—	—	
4	5	23		—	—	
5	6	5		—	—	
Total		137			—	

TABLE 20. Data on mortalities of fish in the live boxes in 1958 before and immediately after tagging.

TABLA 20. Datos sobre la morbilidad de los peces en los viveros en 1958 antes e inmediatamente después de la marcación.

Date caught	Area caught	Number caught	Number died before tagging	Date tagged	Number tagged	Number dead 3 days after tagging	Remarks
Fecha de la captura	Área de pesca	No. de peces capturados	No. de peces muertos antes de la marcación	Fecha de la marcación	No. de peces marcados	No. de peces muertos 3 días después de la marcación	Observaciones
5 May	?	?	?	6 May	415	381	
7 May	?	about 1,200	all	—	—	—	all dead 8 May — todos murieron el 8 de mayo
8 May	Ensenada Vieque	about 500	—	8 May	392	223	
9 May	?	?	—	9 May	200	197	
19-20 May	?	?	all	—	—	—	all dead shortly after capture — todos murieron poco tiempo después de la captura
26-27 May	?	?	all	—	—	—	all dead shortly after capture — todos murieron poco tiempo después de la captura
4-5 June	Ensenada Vieque	?	?	9 June	400	14	
4-5 June	Ensenada Vieque	?	?	9 June	115	1	fish caught and tagged on different days were mixed together in one section; cumulative mortalities on 10, 11, 12, and 13 June were 1, 55, 71, and 74 respectively peces capturados y marcados en diferentes días se mezclaron en una sección; la mortalidad acumulativa en los días 10, 11, 12 y 13 de junio fué de 1, 55, 71 y 74 respectivamente
9 June	Ensenada Vieque	?	?	10 June	85	73	
9 June	Ensenada Vieque	?	?	10 June	200	200	large internal tags — marcas internas grandes small internal tags — marcas internas pequeñas
17 June	Ensenada Vieque	about 300	?	18 June	200	197	
17 July	Panamá Viejo	about 671	?	18 July	100	85	
28 Aug.	Panamá Viejo	about 486	about 20	29 Aug.	446	214	
1 Oct.	Panamá Viejo	about 600	about 500	—	—	—	about 100 alive 7 October — cerca de 100 vivos el 7 de octubre
8-9 Oct.	?	about 500	about 384	—	—	—	116 alive 17 October — 116 vivos el 17 de octubre
15-16 Oct.	Panamá Viejo	about 80	about 55	—	—	—	about 35 alive 17 October — cerca de 35 vivos el 17 de octubre

TABLE 21. Data on mortalities of fish in the live boxes in 1959 before and immediately after tagging.

TABLA 21. Datos sobre la mortalidad de los peces en los viveros en 1959 antes e inmediatamente después de la marcación.

Date caught	Area caught	Number caught	Number died before tagging	Date tagged	Number tagged	Number dead 3 days after tagging	Remarks
Fecha de la captura	Área de pesca	No. de peces capturados	No. de peces muertos antes de la marcación	Fecha de la marcación	No. de peces marcados	No. de peces muertos 3 días después de la marcación	Observaciones
11-13 May	Ensenada Vique	about 3,443	1,035	18-19 May	1,600	119	82 of the 119 had been marked with trypan blue dye 82 de los 119 peces habían sido marcados con tinte
8-10 June	Ensenada Vique	about 1,878	363	15-16 June	1,115	73	48 of the 73 had been marked with trypan red and fast green FCF dyes 48 de los 73 peces habían sido marcados con tinte
13, 15 July	Panamá Viejo	about 1,422	82	20 July	1,200	265	178 of the 265 had been marked with Rhodamine 6 GDN extra dye 178 de los 265 peces habían sido marcados con tinte
10-11 Aug.	Panamá Viejo	about 1,052	352	17 Aug.	685	16	

TABLE 22. Data on mortalities of fish in the live boxes in 1960 before and immediately after tagging.

TABLA 22. Datos sobre la mortalidad de los peces en los viveros en 1960 antes e inmediatamente después de la marcación.

Date caught	Area caught	Number put into live boxes	Number died before tagging	Date tagged	Number tagged	Number dead 3 days after tagging	Remarks
Fecha de la captura	Área de pesca	No. de peces en los viveros	No. de peces muertos antes de la marcación	Fecha de la marcación	No. de peces marcados	No. de peces muertos 3 días después de la marcación	Observaciones
11-13 May	Bahía Chorrera	2,280	—	11-13 May	1,200	1,864	1,864 dead 3 days after second day of tagging 1,864 peces murieron 3 días después del segundo día de la marcación
23 May	Ensenada Vique	300	10	—	—	—	not tagged; 10 died in first 3 days of confinement no se marcaron; 10 peces murieron en los 3 primeros días de encierro
24 May	Panamá Viejo	300	27	—	—	—	not tagged; 27 died in first 2 days of confinement no se marcaron; 27 peces murieron en los 2 primeros días de encierro
27-29 May	Bahía Chorrera and Isla Verde	1,980	—	27-29 May	1,980	1,396	1,396 dead 3 days after second day of tagging 1,396 peces murieron 3 días después del segundo día de la marcación
27 June	Panamá Viejo	300	294	—	—	—	not tagged; 294 died in first 3 days of confinement no se marcaron; 294 peces murieron en los 3 primeros días de encierro
30 June	Bahía Chorrera	954	—	30 June	954	279	
1 July	Bahía Chorrera	700	137	6 July	400	7	

TABLE 23. Mortalities of untagged fish occurring the first few days after capture. The percentages were obtained from the figures given in Tables 17, 18, and 19.

TABLA 23. Mortalidad de los peces no marcados que ocurrió en los primeros días después de la captura. Los porcentajes se obtuvieron de las cifras dadas en las Tablas 17, 18 y 19.

Date caught	1958		1959		1960			
	Per cent dead	Date caught	Per cent dead	Date caught	Per cent dead	Date caught	Per cent dead	
Fecha de la captura	1958	Porcentajes de muertos	Fecha de la captura	1959	Porcentajes de muertos	Fecha de la captura	1960	Porcentajes de muertos
			11-13 May		30	11-13 May		68
						23 May		3
						24 May		9
						27-29 May		53
			8-10 June		19	27 June		98
						30 June		25
						1 July		20
			13, 15 July		6			
			10-11 Aug.		33			
28 Aug.		52						

TABLE 24. Removal of tagged and untagged anchovetas and loose tags from the live boxes in 1958.

TABLA 24. Remoción de anchovetas marcadas y no marcadas y de marcas sueltas en los viveros en 1958.

Experimento	Number dead Days after tagging					Number living at termination		Total
	0-10		11-20		21-30	Número de muertos Días después de la marcación	Fish	
	0-10	11-20	21-30	31-50	>50	Días	Peces	
1a	Tags retained*	71	4	0	0	0	0	75
	Tags shed**	4	0	1	5	104	1	115
	Tags on floor***	4	19	88	3	2	—	116
2a	Tags retained	151	0	1	0	0	0	152
	Tags shed	4	1	0	1	33	0	39
	Tags on floor	3	1	30	5	1	—	40
3a	Tags retained	195	0	0	—	—	0	195
	Tags shed	3	2	0	—	—	2	7
	Tags on floor	2	1	4	—	—	—	7
5a	Tags retained	170	1	0	0	—	3	174
	Tags shed	9	0	1	0	—	11	21
	Tags on floor	6	0	3	1	—	—	10
6a	Tags retained	208	—	—	—	—	0	208
	Tags shed	3	—	—	—	—	0	3
	Tags on floor	2	—	—	—	—	—	2
3b	Tags retained	4	5	9	2	0	0	20
	Tags shed	3	2	22	65	73	0	165
	Tags on floor	39	75	45	8	0	—	167
4a	Tags retained	8	1	9	9	0	0	27
	Tags shed	8	5	15	36	77	24	165
	Tags on floor	79	45	27	10	0	—	161
6b	Tags retained	82	9	11	16	7	0	125
	Tags shed	3	3	3	20	50	0	79
	Tags on floor	2	7	10	38	16	—	73
5d	Tags retained	87	1	1	0	—	0	89
	Tags shed	2	3	4	1	—	1	11
	Tags on floor	1	7	1	0	—	—	9
2b	Tags retained	133	36	10	0	—	0	179
	Tags shed	3	17	13	1	—	2	36
	Tags on floor	6	18	9	2	—	—	35
5e	Tags retained	24	4	1	0	—	0	29
	Tags shed	4	4	2	0	—	0	10
	Tags on floor	6	2	7	0	—	—	15

\* Marcas retenidas

\*\* Marcas desprendidas

\*\*\* Marcas en el piso

TABLE 25. Removal of tagged and untagged anchovetas and loose tags from the live boxes in 1959; external tag experiments.

TABLA 25. Remoción de anchovetas marcadas y no marcadas y de marcas sueltas en los viveros en 1959; experimentos con marcas externas.

Experiment Experi- mento	Number dead Days after tagging					Number living at termination			Total	
	Número de muertos Días después de la marcación					Número de vivos al final				
	0-10 0-10	11-20 11-20	21-30 21-30	31-50 31-50	>50 >50	Días	Peces			
2c	Tags retained*	10	1	2	1	0	0	14		
	Tags shed**	0	0	9	5	6	63	165	185	
	Tags on floor***	6	40	99	33	3	—	—	181	
3c	Tags retained	4	1	0	—	—	—	60	65	
	Tags shed	1	1	0	—	—	21	134	136	
	Tags on floor	84	38	5	—	—	—	—	127	
7a	Tags retained	5	0	—	—	—	—	5	10	
	Tags shed	3	3	—	—	—	20	183	189	
	Tags on floor	175	10	—	—	—	—	—	185	
8a	Tags retained	10	8	15	2	2	63	110	47	
	Tags shed	0	1	19	14	3	—	—	147	
	Tags on floor	5	32	59	35	8	—	—	139	
9a	Tags retained	0	1	0	—	—	—	0	1	
	Tags shed	2	1	1	—	—	28	11	15	
	Tags on floor	7	3	1	—	—	—	—	11	
10a	Tags retained	1	1	0	—	—	—	1	3	
	Tags shed	1	2	1	—	—	28	90	94	
	Tags on floor	70	18	7	—	—	—	—	95	
6e	Tags retained	6	4	2	0	0	—	0	12	
	Tags shed	4	3	1	17	37	127	6	68	
	Tags on floor	25	19	15	5	0	—	—	64	

\* Marcas retenidas

\*\* Marcas desprendidas

\*\*\* Marcas en el piso

TABLE 26. Removal of tagged and untagged anchovetas and loose tags from the live boxes in 1959; internal tag experiments.

TABLA 26. Remoción de anchovetas marcadas y no marcadas y de marcas sueltas en los viveros en 1959; experimentos con marcas internas.

Date Fecha	Experiment 5f					Experiment 8b				
	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor
	Marcas rete- nidas	Marcas des- prendidas	Desco- nocido	Total	Marcas en el piso	Marcas rete- nidas	Marcas des- prendidas	Desco- nocido	Total	Marcas en el piso
May	—	—	16	16	0	—	—	—	—	—
June	—	—	15	15	86	—	—	—	—	—
Died during first month*	—	—	31	31	86	—	—	—	—	—
July	1	1	4	6	8	—	—	—	—	—
21-31 July	—	—	—	—	—	74	0	6	80	16
1-9 Aug.	1	5	1	7	0	6	4	1	11	15
10 Aug.	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
11-16 Aug.	3	6	1	10	0	8	4	3	15	8
17 Aug.	1	0	0	1	1	1	0	1	2	1
18-22 Aug.	1	4	1	6	1	1	2	0	3	2
Died during first month*	—	—	—	—	—	90	10	11	111	43
23-31 Aug.	2	4	4	10	2	3	2	0	5	1
1-17 Sep.	12	6	7	25	4	7	4	0	11	1
18-22 Sep.	3	0	0	3	0	2	1	0	3	0
23-30 Sep.	3	8	2	13	0	1	0	0	1	0
1-6 Oct.	4	1	0	5	0	0	0	0	0	0
7-23 Oct.	10	6	1	17	0	6	6	1	13	0
24 Oct.-2 Nov.	1	0	1	2	0	0	1	0	1	0
3-14 Nov.	1	4	1	6	1	2	1	1	4	0
15-27 Nov.	5	4	0	9	2	9	0	1	10	1
28 Nov.-22 Dec.	1	3	5	9	2	6	3	7	16	7
Died after first month**	49	53	28	130	21	36	18	10	64	10
Alive at termina- tion***	10	17	1	28	—	11	9	2	22	—
Total	59	70	60	189	107	137	37	23	197	53

Table 26 (Continued)

Date	Experiment 9c					Experiment 10c				
	Tags re-tained	Tags shed	Un-known	Total	Tags on floor	Tags re-tained	Tags shed	Un-known	Total	Tags on floor
18-22 Aug.	3	0	1	4	6	7	0	0	7	0
23-31 Aug.	19	0	2	21	24	21	2	9	32	49
1-17 Sep.	4	0	6	10	26	14	4	8	26	32
Died during first month*	26	0	9	35	56	42	6	17	65	81
18-22 Sep.	0	0	1	1	5	3	1	2	6	2
23-30 Sep.	9	1	2	12	1	2	2	0	4	3
1-6 Oct.	5	6	0	11	1	6	1	0	7	0
7-23 Oct.	24	7	2	33	2	26	26	2	54	2
24 Oct.-2 Nov.	4	3	1	8	0	1	2	0	3	0
3-14 Nov.	13	4	2	19	1	2	2	0	4	1
15-27 Nov.	16	1	3	20	1	8	2	0	10	0
28-Nov.-22 Dec.	7	2	1	10	1	3	1	0	4	0
Died after first month**	78	24	12	114	12	51	37	4	92	8
Alive at termina-tion***	15	11	0	26	—	3	3	0	6	—
Total	119	35	21	175	68	96	46	21	163	89

\* Muertos durante el primer mes

\*\* Muertos después del primer mes

\*\*\* Vivos al final

TABLE 27. Shedding of internal tags from fish of the 1959 experiments survived in the live boxes for at least 1 month after tagging.

TABLA 27. Desprendimiento de las marcas internas de los peces de los experimentos de 1959 que sobrevivieron en los viveros por lo menos 1 mes después de marcados.

Experi-ment	Date initiated	Tags retained	Tags shed	Total	Per cent of tags shed
Experi-mento	Fecha inicial	Marcas retenidas	Marcas desprendidas	Total	Porcentaje de marcas desprendidas
5f	19 May	59	70	129	54.3
8b	20 July	47	27	74	36.5
9c	17 Aug.	93	35	128	27.3
10c	17 Aug.	54	40	94	42.6
Total		253	172	425	40.5

TABLE 28. Numbers of tagged fish of the 1959 internal tag experiments remaining alive after selected intervals of time. Further explanation is made in the text.

**TABLA 28.** Números de peces marcados de los experimentos con marcas internas en 1959 que quedaron vivos después de un intervalo de tiempo seleccionado. Una explicación más detallada se da en el texto.

TABLE 29. Removal of tagged and untagged anchovetas and loose tags from the live boxes in 1960.

TABLA 29. Remoción de anchovetas marcadas y no marcadas y de marcas sueltas en los viveros en 1960.

Experimento	Number dead Days after tagging					Number living at termination			Total
	0-14		15-21		30-41	42-57		Fish	
	0-14		Días después de la marcación 15-21		22-29	30-41		Días	
<b>Tags retained</b>									
7e	Marcas retenidas	7	11	32	17	1		2	70
	Tags shed	2	0	3	0	0	57	23	28
	Tags on floor	7	5	28	15	23	—	—	78

TABLE 30. Removal of tagged and untagged anchovetas and loose tags from the live boxes in 1960.

TABLA 30. Remoción de anchovetas marcadas y no marcadas y de marcas sueltas en los viveros en 1960.

Date	Experiments 6f, 11d, 12d, 8c Control					Experiments 5g, 10d, 1c, 9d Treated with antibiotics				
	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor
	Experiments 6f, 11d, 12d, 8c Control					Experiments 5g, 10d, 1c, 9d Tratados con antibióticos				
Fecha	Marcas re- tenidas	Marcas des- prendidas	Desco- nocio	Total	Marcas en el piso	Marcas re- tenidas	Marcas des- prendidas	Desco- nocio	Total	Marcas en el piso
12 May	96	1	1	98	3	91	1	0	92	1
13 May	181	1	2	184	1	181	0	2	183	4
14 May	181	0	3	184	0	217	1	4	222	1
15-16 May	170	0	13	183	6	178	0	18	196	12
17 May	3	0	0	3	4	5	0	0	5	5
18 May	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2
19-23 May	4	2	0	6	8	7	3	0	10	12
24 May	0	1	0	1	4	0	1	0	1	4
25-26 May	0	1	0	1	7	2	0	1	3	5
Died during first month*	637	6	19	662	35	681	6	25	712	46
Alive at termination***	47	17	0	64	—	48	30	1	79	—
Total	684	23	19	726	35	729	36	26	791	46

Table 30 (Continued)

Date	Experiments 6g, 11e, 12e, 8d Control					Experiments 5h, 10e, 1d, 9e Treated with antibiotics				
	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor	Tags re- tained	Tags shed	Un- known	Total	Tags on floor
	Experiments 6g, 11e, 12e, 8d Control					Experiments 5h, 10e, 1d, 9e Tratados con antibioticos				
28 May	20	0	1	21	3	26	0	0	26	2
29 May	150	1	0	151	0	115	0	3	118	4
30 May	238	0	2	240	4	271	0	2	273	2
31 May	73	1	0	74	3	65	1	0	66	5
1-5 June	5	0	0	5	32	2	2	0	4	25
6 June	1	0	0	1	11	3	0	0	3	2
7 June	0	0	0	0	2	1	0	0	1	5
8-13 June	2	1	1	4	18	4	1	3	8	25
14 June	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1
15-20 June	2	2	4	8	9	0	1	1	2	9
21 June	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
22-30 June	3	1	0	4	6	3	2	1	6	4
Died during first month*	494	6	9	509	91	491	7	10	508	86
1 July	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
2-5 July	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0
6 July	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
7-20 July	1	0	4	5	2	0	0	2	2	1
21 July	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
22-27 July	0	0	0	0	2	2	0	0	2	3
28 July	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29 July-4 Aug.	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0
5-9 Aug.	1	2	1	4	1	0	2	0	2	0
10-16 Aug.	0	0	0	0	0	3	3	0	6	0
17-23 Aug.	2	5	2	9	0	3	0	0	3	0
24 Aug.	0	0	2	2	1	2	1	4	7	0
25-31 Aug.	4	3	0	7	0	1	1	0	2	0
1 Sep.	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Died after first month**	8	14	9	31	7	14	7	7	28	5
Alive at termination***	52	42	0	94	—	61	40	1	102	—
Total	554	62	18	634	98	566	54	18	638	91

Table 30 (Continued)

Date	Control Experiments 2g, 8e					Experiments 1e, 9f Treated with antibiotics				
	Tags re-tained	Tags shed	Un-known	Total	Tags on floor	Tags re-tained	Tags shed	Un-known	Total	Tags on floor
1 July	35	0	2	37	5	47	0	2	49	2
2-5 July	74	2	6	82	0	57	0	8	65	0
6 July	2	0	2	4	0	1	0	1	2	0
7-20 July	10	0	6	16	51	9	1	8	18	25
21 July	1	0	0	1	3	0	0	0	0	19
22-27 July	1	0	1	2	1	4	1	0	5	9
28 July	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2
Died during first month*	123	2	17	142	60	120	2	19	141	57
29 July-4 Aug.	5	1	1	7	9	5	2	2	9	6
5-9 Aug.	2	2	0	4	0	2	2	2	6	2
10-16 Aug.	0	0	0	0	0	9	3	1	13	0
17-23 Aug.	3	1	0	4	3	4	2	1	7	6
24 Aug.	2	0	3	5	1	3	0	1	4	5
25-31 Aug.	7	1	1	9	0	2	4	2	8	4
1 Sep.	1	0	0	1	0	2	0	0	2	0
Died after first month**	20	5	5	30	13	27	13	9	49	23
Alive at termination***	67	32	0	99	—	51	7	0	58	—
Total	210	39	22	271	73	198	22	28	248	80

\* Muertos durante el primer mes

\*\* Muertos después del primer mes

\*\*\* Vivos al final

TABLE 31. Shedding of internal tags from fish of the 1960 experiments that survived in the live boxes for at least 1 month after tagging.

TABLA 31. Desprendimiento de las marcas internas de los peces de los experimentos de 1960 que sobrevivieron en los viveros por lo menos 1 mes después de marcados.

Experiment	Date initiated	Tags retained	Tags shed	Total	Per cent of tags shed
Experimento	Fecha inicial	Marcas retenidas	Marcas desprendidas	Total	Porcentaje de marcas desprendidas
6g, 11e, 12e, 8d, control	27-29 May	60	56	116	48.2
5th, 10e, 1d, 9e, antibiotics	27-29 May	75	47	122	38.5
2g, 8e, control	30 June	87	37	124	29.8
1e, 9f, antibiotics	30 June	78	20	98	20.4
Total		300	160	460	34.8

**EXPERIMENTOS EN VIVEROS CON ANCHOVETAS,  
*CETENGRAULIS MYSTICETUS*,  
EN EL GOLFO DE PANAMA**

por

**William H. Bayliff y Edward F. Klima**

**RESUMEN**

Durante 1958, 1959 y 1960 se hicieron extensos experimentos en viveros para probar la eficacia del uso de varias marcas en las anchovetas y para ensayar los efectos del empleo de anestésicos y antibióticos en el momento de la operación de marcación. En estos tres años se utilizó un total de 12,767 peces en 72 experimentos. Se hicieron anotaciones diarias de la mortalidad y del desprendimiento de las marcas. El período más largo de duración de un experimento sobrepasó ligeramente los 7 meses.

Se probó una gran variedad de marcas externas, pero todas se desprendieron rápidamente. La marca circunvertebral, un diseño original, fué retenida mejor que cualquiera de las otras, pero fué precisamente la única marca externa que causó mortalidad.

Las marcas internas de metal fueron usadas con resultados satisfactorios; éstas no causaron mortalidad en los peces que habían sido mantenidos en los viveros 1 semana antes de la marcación, pero los peces marcados el día de su captura experimentaron una mortalidad más alta que los peces de control. El desprendimiento de marcas ocurrió durante las primeras 2 ó 3 semanas siguientes a la marcación y después cesó. Entre los peces que sobrevivieron por lo menos 1 mes en cautividad, aproximadamente un 35 por ciento perdió sus marcas.

Se inyectó tres colorantes de anilina debajo de la piel de los peces: azul tripano ("trypan blue"), rojo tripano ("trypan red") y verde sólido FCF ("fast green FCF"). Aparentemente todos los colorantes causaron algo de mortalidad y se destiñeron, aunque ninguno desapareció por completo.

También se inyectó en la misma forma tres pigmentos inertes: látex líquido, óxido férreo y sulfuro de cadmio. Ninguno causó mortalidad, pero todos fueron rápidamente expulsados a través de la piel de los peces.

Así mismo, se inyectó debajo de la piel de los peces tres fluoresceínas: "Rhodamine 6 GDN extra", "Brilliant acid yellow 8G" y "Thiazine red R". La primera causó intensa mortalidad; la primera y la segunda, que son insolubles en el agua, fueron expulsadas rápidamente a través de la piel; mientras que la tercera, que es soluble en el agua, fué retenida. En una prueba realizada después de su inyección en peces muertos, no se pudo distinguir ninguno de los tintes; aparentemente la piel impidió el paso de la radiación ultravioleta y/o fluorescente.

Se probó cuatro anestésicos: quinaldina, MS 222, Dormison y alcohol amílico terciario. La quinaldina aparentemente causó algo de mortalidad y, además, demostró ser químicamente inestable. El Dormison y el alcohol amílico terciario también parecen haber causado algo de mortalidad y, además, anestesiaban a los peces muy lentamente para experimentos prácticos en el terreno. El MS 222 en una concentración de 0.4 gramo por galón también puede haber causado algo de mortalidad, pero rebajado a 0.2 gramo por galón aparentemente actuó en forma satisfactoria. La anestesia facilitó considerablemente la marcación de los peces.

Se había observado en los peces con marcas internas que a menudo se infectaba y agrandaba la incisión por donde había sido insertada la marca, lo que aparentemente contribuía al desprendimiento de ésta y, además, podía haber causado algo de mortalidad; en consecuencia, se usó terramicina y penicilina con el objeto de prevenir tales infecciones. El uso de antibióticos no disminuyó la mortalidad de los peces marcados, pero puede haber reducido el desprendimiento de las marcas en un 25 por ciento.

#### INTRODUCCION

La necesidad de efectuar experimentos de marcación con anchovetas, *Cetengraulis mysticetus*, y con otras importantes especies de carnada ha sido reconocida desde el comienzo de las investigaciones de la Comisión Interamericana del Atún Tropical en 1951. Para probar varios tipos de marcas, en 1951 y 1952 se hicieron experimentos con sardinas, *Sardinops caerulea*, en acuarios de la Scripps Institution of Oceanography. Se llegó a la conclusión de que una marca de gallardete con alambre de acero inoxidable o tantalio, atada en una parte bastante anterior a la aleta dorsal, era apropiada para la anchoveta (Schaefer, 1953).

En el año 1953 se marcaron en Guaymas, México y en el Golfo de Panamá 1,816 anchovetas con marcas de gallardete; sin embargo, se efectuaron solamente 5 recobros, todos en el curso de las 2 semanas siguientes a la marcación. Alrededor de 1,000 anchovetas más fueron marcadas con marcas de gallardete y un número similar con marcas de cazonete; los peces fueron mantenidos en los tanques de carnada de un clíper atunero para su observación. En pocos días se desprendió un gran número de las marcas de gallardete, mientras que no se observó desprendimiento de las del otro tipo (Schaefer, 1954).

En 1954, 1955, 1956 y 1957 se marcaron en el Golfo de Panamá 82,989 anchovetas con marcas de cazonete, pero sólo se recobraron 16. Los experimentos en los viveros se efectuaron en 1955, 1956 y 1957 para probar la retención de las marcas y hacer estimaciones de la mortalidad causada por la marcación. Una serie de accidentes desafortunados terminó prematuramente con todos los experimentos; sin embargo, duraron lo suficiente para demostrar que una parte considerable de las marcas se desprendía dentro de un corto tiempo después de la marcación (Schaefer, 1955, 1958).

En 1958, 1959 y 1960 se hicieron experimentos en viveros para probar una variedad de marcas y técnicas en el manipuleo de los peces con resultados satisfactorios. Durante los tres años se efectuaron 72 experimentos con un total de 12,767 peces. El presente informe constituye una relación de esos experimentos.

Se deja constancia del agradecimiento a los siguientes miembros del personal científico de la Comisión Interamericana del Atún Tropical por su valioso asesoramiento e inestimable ayuda en el programa: Dr. Milner B. Schaefer, Director de Investigaciones, y Sres. Gerald V. Howard (actualmente con el U. S. Bureau of Commercial Fisheries), Clifford L. Peterson, Izadore Barrett y Enrique J. Guardia. El Sr. Barrett estuvo encargado de los experimentos en 1958. Los Sres. Rito Delgado y Ovidio Delgado desempeñaron eficientemente las tareas de capturar los peces para los experimentos y del mantenimiento diario de los viveros. Las siguientes personas donaron marcas para los experimentos: Sr. Einar Lea, Biological Laboratory, Oslo, Noruega, marcas hidrostáticas; Sr. R. A. McKenzie, Fisheries Research Board of Canada, Saint Andrews, New Brunswick, marcas en el opérculo; Sr. R. Walter Williams, Washington Department of Fisheries, Seattle, marcas internas grandes; Dr. F. H. C. Taylor, Fisheries Research Board of Canada, Nanaimo, British Columbia, marcas internas pequeñas. Las siguientes personas asesoraron en varias fases del trabajo: Sr. T. J. Costello, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Coral Gables, Florida, colorantes de anilina; Sr. Fred C. June, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Beaufort, North Carolina, fluoresceínas; Dr. William N. McFarland, Institute of Marine Science, University of Texas, Port Aransas, Texas, Dr. Norman J. Wilimovsky, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Juneau, Alaska, y Sr. Robert W. Saalfeld, Great Lakes Fishery Commission, Ann Arbor, Michigan, anestésicos; Dr. Werner P. Heuschele, San Diego Zoo y Sr. Brian J. Earp, Washington Department of Fisheries, Seattle, antibióticos. El Sr. Richard H. vanHaagen, Fisheries Instrumentation Laboratory, U. S. Bureau of Commercial Fisheries, Seattle, amablemente proporcionó un artefacto para detectar la presencia de las fluoresceínas.

#### REVISION DE LA LITERATURA PERTINENTE

Solamente unos pocos experimentos de mantenimiento en viveros se han intentado con peces similares a la anchoveta para determinar la eficacia de varias marcas desde los puntos de vista de la mortalidad y del desprendimiento. Rounsefell y Dahlgren (1933) efectuaron 12 experimentos con arenques del Pacífico, *Clupea pallasi*, para probar los efectos de cinco clases de marcas en períodos de 46 a 52 días. Se utilizaron marcas en el opérculo, marcas con una especie de grapa de metal insertada en la región caudal, cintas de seda pasadas a través del opérculo, cintas de seda pasadas a través del cuerpo y marcas metálicas internas. De 25 peces marcados con marcas internas, 2 murieron y a otros 2 se les cayeron las marcas durante los 46 días de confinamiento en el vivero. Los peces con marcas en el opérculo y los peces de control registraron

tasas de mortalidad y de desprendimiento similares a las de los peces con marcas internas. Las marcas en la región caudal resultaron inferiores a las internas y a las de en el opérculo, y los dos tipos de marcas de cinta causaron intensa mortalidad y se desprendieron rápidamente. En los peces con marcas internas se observó que la incisión por donde la marca fué insertada sanó completamente dentro de 9 días, lo que redujo o eliminó la posibilidad de otros desprendimientos. Los experimentos en el terreno con marcas internas y en el opérculo demostraron posteriormente que hubo un porcentaje mucho más alto de recobros con las primeras.

Janssen y Aplin (1945) efectuaron experimentos en viveros con sardinas de California, *Sardinops caerulea*, usando diversos tipos de marcas internas. Se encontró que las marcas causaron mortalidad en cantidades considerables y también se observó que hubo un poco de desprendimiento, lo que ocurrió principalmente durante los 2 primeros meses después de la marcación, pero algunos peces continuaron perdiendo las marcas hasta el final de los experimentos que duraron hasta 5 meses.

Sette (1950) condujo experimentos con macarelas del Atlántico, *Scomber scombrus*, confinadas en una gran piscina a la intemperie, y usó peces marcados con bandas de celuloide, con anillos de celuloide y con bandas de goma colocados alrededor del pedúnculo caudal, y marcas internas de celuloide. Las marcas internas no afectaron en forma adversa a los peces en el sentido de causar mortalidad o de perjudicar el crecimiento; las otras marcas fueron considerablemente menos satisfactorias, ya que produjeron desolladuras severas en el pedúnculo caudal. No se llevó cuenta del desprendimiento de las marcas internas, pero se observó que unas pocas de las bandas de celuloide se habían perdido.

Fridriksson y Aasen (1950), trabajando con arenques del Atlántico, *Clupea harengus*, mantuvieron 80 peces con marcas internas y 80 ejemplares de control en un tanque de madera durante 36 horas. Al terminar este período el 25 por ciento de los peces marcados y el 20 por ciento de los peces de control habían muerto, y a cuatro de los restantes se les había desprendido las marcas. Otro experimento se efectuó con 912 peces marcados y un número igual de peces de control, los que fueron confinados durante 13 días en una red de playa. Durante este tiempo murieron 23 de los peces marcados y 21 de los peces de control. No se observó desprendimiento de marcas entre 99 de los peces marcados que sobrevivieron hasta la terminación de los experimentos y fueron luego disecados. En otro experimento, sólo 1 de 103 peces perdió su marca después de 2 semanas.

Wood, Parrish y McPherson (1955) realizaron una prueba de 200 días en un acuario con arenques del Atlántico, *Clupea harengus*, marcados con marcas de cazonete. De 10 peces marcados, 2 murieron y otros 2 perdieron sus marcas, y 1 de los 10 peces de control murió.

Hourston (1959) efectuó seis experimentos "en varias clases de viveros y estanques" con juveniles de arenques del Pacífico, *Clupea*

*pallasi*. De un total de 390 peces con marcas internas, ninguno sobrevivió, mientras que la mortalidad de los peces de control varió de 8 a 51 por ciento.

#### METODOS Y MATERIAL

Los peces usados en la investigación a que se refiere el presente trabajo fueron capturados en Ensenada Viejo, Panamá Viejo, Bahía Chorrera o en la Isla Verde. Se empleó generalmente una atarraya para capturarlos, pero el 11 de mayo de 1959 un barco redero donó alrededor de 1,200 peces. El procedimiento usual fué el de remolcar hasta el área de pesca, con el barco de investigaciones de la Comisión, *Saint Jude*, una canoa modificada para mantener y transportar peces vivos. Cuando se veían señales de peces, con la ayuda de un motor fuera de borda se hacía entrar la canoa a las aguas de poca profundidad en donde se efectuaba la pesca. Una vez obtenida una cantidad suficiente de peces, la canoa era remolcada a la Isla Taboga.

En la Isla Taboga los peces eran generalmente traspasados de la canoa a los viveros y mantenidos allí hasta la marcación. Sin embargo, algunas veces durante 1958 los peces fueron marcados inmediatamente de su llegada a la Isla Taboga, y entonces no se les trasladaba a los viveros sino hasta después de que habían sido marcados. También en aquel año, en unas pocas ocasiones no hubo espacio en los viveros y entonces los peces fueron mantenidos en la canoa durante la noche antes de su marcación. En 1960, para los experimentos en que los peces fueron marcados el mismo día de su captura, antes de la marcación se les traspasaba de la canoa a viveros flotantes hechos de tubería de aluminio y tejido de red. En 1959 se tardó 2 ó 3 días en la pesca de suficientes peces para la marcación y en consecuencia se tuvo cuidado de mezclar en los viveros los peces capturados en distintos días, de modo que cualquier posible mortalidad diferencial en los distintos grupos no produjera confusión en los resultados de los experimentos.

En 1958 se emplearon dos viveros, cada uno de 8 pies de largo, 4 de ancho y 4 de profundidad, consistentes ambos de tres secciones iguales. En 1959 y 1960 se usaron seis cajas de las mismas dimensiones, cada una consistente de dos secciones iguales en vez de tres. En estos dos últimos años, las cajas fueron acopladas por medio de pernos. Se construyeron con planchas de madera encapada de media pulgada de espesor especial para uso en el mar, y con piezas de madera de 2 por 4 pulgadas, con ventanas de 12 pulgadas cuadradas cortadas a los lados y en los extremos en la línea de flotación y revestidas con cedazos de metal. Las tapas eran también del mismo cedazo metálico y cada sección estaba provista de un candado. Para que solamente más o menos dos tercios de cada caja estuvieran sumergidos, se usaron tambores vacíos de aceite de 55 galones encadenados a los lados para servir como boyas. Las cajas fueron ancladas en unos 15 metros de agua en el puerto de la villa de Taboga.

Durante la marcación, todos los peces que iban a usarse eran generalmente sacados de los viveros con atarrayas o carcales y colocados en

el tanque de la canoa. Tres o cuatro peces eran sacados del tanque cada vez y colocados en un recipiente con agua de poca profundidad cerca de la persona encargada de marcar. La marcación tuvo lugar en este recipiente y debajo del agua durante el mayor tiempo posible; tan pronto como cada ejemplar era marcado, se le echaba en una sección de uno de los viveros. Los peces de control eran sacados de la canoa, contados y echados en los viveros.

Un grupo de peces fué anestesiado con quinaldina antes de la marcación. Para este objeto se colocó dos recipientes de plástico poco profundos sobre el asiento de la canoa, uno al lado de otro, conteniendo cada uno más o menos  $2\frac{1}{2}$  litros de solución de quinaldina. Aproximadamente ocho peces fueron puestos en cada recipiente para la marcación. Después de que todos los peces de un recipiente habían sido marcados y echados en la sección correspondiente, se ponían más peces en él y se marcaban los del otro recipiente. Se necesitaban unos 4 minutos para marcar ocho peces, de modo que cada pez era sumergido en la solución de quinaldina unos 4 a 8 minutos antes de ser marcado. Después de haber marcado 100 peces, la solución de quinaldina empleada se cambiaba por solución fresca.

Un lote de los peces de control fué anestesiado con quinaldina; a estos peces se les mantuvo en grupos de 20 en una solución de más o menos  $2\frac{1}{2}$  litros de quinaldina por aproximadamente 2 minutos antes de ser echados en la sección correspondiente de uno de los viveros.

En 1959, un grupo de los peces de control fué anestesiado con MS 222. Se usó el mismo procedimiento que con los peces de control anestesiados con quinaldina, pero se les dejó en la solución 5 minutos en vez de 2, y la solución se cambiaba después de haber anestesiado 60 peces.

En 1958 y 1959, todos los peces empleados para un experimento dado fueron marcados y puestos dentro de la sección correspondiente de los viveros antes de comenzar el próximo experimento. Sin embargo, en 1960 todos los peces para los experimentos iniciados en las mismas fechas fueron marcados concurrentemente en grupos de 10, según se describe más adelante.

Los experimentos de 1960 con marcas internas se realizaron a bordo del *Saint Jude*. Todos los peces fueron marcados el mismo día en que se capturaron. El bote fué amarrado al costado de los viveros y los peces fueron mantenidos al otro lado del bote en un vivero flotante hecho con tubería y tejido de red. Para los dos primeros grupos de experimentos (mayo 11-13 y mayo 27-29) se empleó una serie de ocho baldes de plástico de  $2\frac{1}{2}$  galones, numerados. El primero contenía MS 222, terramicina y 2 galones de agua de mar; el segundo, MS 222 y agua de mar; el tercero y el cuarto, Dormison y agua de mar con y sin terramicina; el quinto y el sexto, alcohol amílico terciario y agua de mar con y sin terramicina; y el séptimo y el octavo, agua de mar con o sin terramicina. (El MS 222,

el Dormison y el alcohol amílico terciario son anestéticos.) Los peces fueron introducidos en los baldes de 10 en 10 con un carcal y luego de haberlos marcado se les transportó en otro balde a las secciones respectivas de los viveros. Las secciones habían sido previamente escogidas al azar sacando números de un sombrero. Los peces fueron sometidos a los diferentes tratamientos en el orden de serie en grupos de 10, como se indica en la tabla que sigue a continuación, hasta que se agotaba la partida. Las dos personas encargadas de la marcación cambiaban de baldes a intervalos de más o menos 50 peces por sección, de modo que cada experimento comprendió ejemplares marcados por ambos operadores.

	Balde	Anestésico	Antibiótico	Marca	Sección
Operador	1	MS 222	sí	sí	10
	2	MS 222	no	sí	11
	3	Dormison	sí	no	7
	4	Dormison	no	sí	12
Operador	5	alcohol amílico	sí	no	2
	6	alcohol amílico	no	sí	9
	7	ninguno	sí	no	8
	8	ninguno	no	sí	5
				no	6
					4

Los procedimientos para la marcación del tercer grupo (junio 30) fueron los mismos a que se hizo referencia anteriormente, excepto que se usaron seis baldes para los seis experimentos, de modo que igual número de peces pasó por cada balde.

La marcación se hizo en pequeñas mesas, cada una con un hueco en el que se ponía un recipiente de plástico de 2 galones lleno de agua de mar, y otro hueco para un pequeño recipiente de plástico que contenía las marcas y un bloque de madera que sostenía una probeta con antibióticos para sumergir las cuchillas de los escápelos a usarse en la operación. Se sacaba a los peces de los baldes uno por uno, se marcaban en la fuente de plástico y se soltaban allí. Cuando los 10 peces del balde estaban marcados, se les trasladaba a otro balde con agua fresca de mar y se transportaban a la sección correspondiente de los viveros. El agua de los tanques se cambiaba frecuentemente. Cada uno de los operadores dispuso de dos recipientes de plástico para las marcas; uno contenía antibióticos y el otro no, y se alternaban según se diera o no el tratamiento antibiótico a los peces. El agua en los baldes de tratamiento no

fué cambiada durante el día, pero era agitada a intervalos frecuentes con un aparato eléctrico especial.

Durante todos los experimentos en que se mantuvo a los peces en viveros, un ayudante permaneció en la Isla Taboga a cargo de los mismos. En 1958 y 1959, los peces fueron alimentados con harina de maíz finamente molida. Parecía que ingerían activamente este alimento, pero a pesar de ello quedaban debilitados en extremo después de varios meses de confinamiento. En 1960 los peces no fueron alimentados. Cada día se sacaba a los peces muertos así como las marcas desprendidas que habían en el piso de cada sección de los viveros y se tabulaban las cantidades en un cuaderno de apuntes. En 1958 y 1959 se registró también el número de peces muertos que habían retenido sus marcas externas y el de los que las habían perdido. En 1958 y a principios de 1959 no hubo medio de recobrar las marcas internas que se habían desprendido. Desde julio de 1959 se arrastró diariamente un pequeño magneto a lo largo del piso de cada una de las secciones en donde se mantenían peces con marcas internas a fin de recobrarlas. También desde principios de julio, los peces que habían muerto en las secciones de experimentación con marcas internas fueron conservados en frascos para su examen, con el propósito de ver si habían retenido sus marcas. En 1960 todos los peces muertos fueron conservados en frascos para su examen posterior.

#### **Marcas externas**

Las marcas de cazonete usadas fueron similares a las descritas por Wood, Parrish y McPherson (1955: Figuras 2A, 2C y 4). Monofilamento de nylon, nylon trenzado, o un alambre fino cubierto de plástico, similar al usado para los brazos de los tocadiscos, que de aquí en adelante será llamado "tallarín", fueron usados para sujetar las partes numeradas a los alambres. Estas marcas eran colocadas debajo de la aleta dorsal del pez, excepto en el Experimento 2a en el que se colocaron en la parte anterior a dicha aleta.

La marca de "tallarín" con gallardete, diseñada por el Sr. Barrett, consistió en un pedazo de alambre cubierto de plástico ensartado en un pequeño rectángulo de tela plástica numerada y anudada en un extremo para evitar la pérdida de la parte numerada. El otro extremo se pasaba a través del cuerpo de los peces, debajo de la aleta dorsal, y también se anudaba.

La marca de "tallarín" con gaza es similar a los Tipos B, C, E, F y G descritos e ilustrados por Wilson (1953), con la excepción de que tiene el número impreso en un pequeño rectángulo de tela plástica en vez de en el "tallarín". Se pasaba el "tallarín" a través del cuerpo de los peces, debajo de la aleta dorsal, y luego se anudaban los dos extremos uno con otro.

La marca hidrostática ha sido descrita e ilustrada por Anónimo (1953: 276). Se colocaba debajo de la aleta dorsal en la misma forma que las marcas de Petersen.

La marca de Atkins es similar a la primera descrita por Anónimo (1876) e ilustrada por Rounsefell y Kask (1945: Figura 1, Tipo 6) y también a la marca con gallardete mencionada por Schaefer (1953, 1954). Se colocaba debajo de la aleta dorsal, y el alambre se retorcía como se indica en la figura de Rounsefell y Kask.

La marca en el opérculo y el método de aplicarla han sido descritos e ilustrados por McKenzie (1950).

La marca de una especie de grapa de metal ("clip-on tag") es similar a la descrita e ilustrada por Letaconnoux (1951: Figura 2B). Se colocaba debajo de la aleta dorsal, cerca de su extremo posterior.

La marca de disco, obtenida de la Floy Tag and Manufacturing Company, Seattle, es hecha de nylon. Esta marca consiste de dos discos, uno con un hueco y el otro con un dardo con púas sujeto a él. Las púas están dispuestas de tal manera que hacen relativamente fácil atravesar el pez con el dardo y pasar éste también por el hueco del otro disco y a la vez sumamente difícil la posibilidad de que se zafe. Se colocaba debajo de la aleta dorsal.

La marca de dardo, también de la Floy Tag and Manufacturing Company, es similar a la descrita por Waldron y Yamashita (1958) pero más pequeña y tiene doble púa en vez de una sola. Se colocaba debajo de la aleta dorsal.

La marca circunvertebral es hecha de nylon trenzado y tiene un pequeño rectángulo de tela plástica numerada. Estas marcas se ajustaban alrededor del cuerpo del pez a más o menos  $\frac{1}{2}$  pulgada posterior al ano; el cordón de nylon se hacía pasar por las regiones dorsal y ventral como a  $\frac{1}{8}$  de pulgada debajo de la superficie dorsal del pez y a  $\frac{1}{8}$  de pulgada sobre la base de la aleta anal. Una vez pasado el cordón en la forma indicada, se anudaban los dos extremos uno con otro.

#### Marcas internas

Las marcas internas "grandes" eran de 0.062 por  $\frac{5}{32}$  por  $\frac{3}{4}$  de pulgada, mientras que las "pequeñas" eran de 0.05 por 3 por 13 milímetros. Todas eran hechas de acero niquelado con los extremos redondeados y con un "acabado" general para evitar los filos cortantes. En 1958 se experimentó con estas marcas internas. Se insertaban a través de una incisión en el lado izquierdo del pez debajo de la línea media lateral, a unos  $\frac{3}{8}$  de pulgada antes del ano. La incisión se hacía con la hoja de una tijera cuya punta estaba afilada para producir un corte agudo, como de pala, de  $\frac{1}{8}$  de pulgada de ancho. Las marcas se insertaban en el cuerpo de los peces en la porción anterior con el fin de que las marcas se quedaran al costado de la pared del cuerpo. En 1959 y 1960 se emplearon sólo marcas internas pequeñas. Durante estos años se usó un escalpelo con una cuchilla No. 11 para hacer las incisiones; éstas fueron hechas dorsalmente a la inserción de las aletas ventrales, más o menos a  $\frac{3}{8}$  de pulgada sobre la línea media ventral, y las marcas fueron introducidas posterior o anteriormente a través de las incisiones. Una

ligera flexión del pez facilitaba la inserción de las marcas. En 1960 todas las marcas fueron insertadas anteriormente.

#### **Colorantes y pigmentos**

Los colorantes de anilina fueron obtenidos de la Allied Chemical Corporation de la Ciudad de Nueva York. Se inyectaron en forma de soluciones al 1 por ciento, cerca de la base de la aleta anal, con jeringas para tuberculina y agujas hipodérmicas. Cada pez era inyectado con más o menos  $\frac{1}{4}$  de mililitro de la solución.

El látex líquido, después de diluirlo en una cantidad igual de agua destilada, se inyectaba cerca de la base de la aleta dorsal con una jeringa para uso veterinario y una aguja hipodérmica. Cada pez recibió más o menos de  $\frac{1}{4}$  a  $\frac{1}{2}$  mililitro de la mezcla.

El óxido férrico y el sulfuro de cadmio fueron mezclados con agua de mar para formar una pasta aguada que fué inyectada a los peces con el mismo equipo usado para el látex líquido. La mitad de cada grupo de peces fué inyectada cerca de la base de la aleta dorsal y la otra mitad cerca de la base de la aleta anal. Cada ejemplar recibió más o menos de  $\frac{1}{4}$  a  $\frac{1}{2}$  mililitro de la mezcla.

Las fluoresceínas fueron también obtenidas de la Allied Chemical Corporation. Se inyectaron en forma de soluciones al 3 por ciento, con jeringas para tuberculina y agujas hipodérmicas; el "Brilliant acid yellow 8G" fué inyectado cerca de la base de la aleta dorsal y la "Thiazine red R" y la "Rhodamine 6 GDN extra" cerca de la base de la aleta anal. Cada pez recibió más o menos  $\frac{1}{4}$  de mililitro de la mezcla.

#### **Anestésicos**

Las soluciones anestésicas fueron preparadas el día antes de ser usadas o el mismo día en que se aplicaron. Cada anestésico fué disuelto primero en una pequeña cantidad de agua destilada y las soluciones fueron disueltas a su vez en agua de mar inmediatamente antes de usarse. En 1959 se empleó la quinaldina (metiloquinoleína 2) a una concentración de 10 partes por millón, y el MS 222 (metanosulfonato de tricaina) a una concentración de 0.2 gramo por galón. En 1960 se usó 0.4 gramo de MS 222 por galón para los dos primeros grupos de experimentos y 0.2 gramo por galón para el tercer grupo. El Dormison (pentinol metílico) se usó a una concentración de 6 mililitros por galón y el alcohol amílico terciario a 10 mililitros por galón.

#### **Antibióticos**

Los antibióticos fueron administrados en tres formas: en los baldes de agua de mar en donde los peces fueron mantenidos antes de la marcación, en las marcas y en las cuchillas de los escalpelos. Se usó la fórmula de terramicina para animales en tubos de  $\frac{1}{2}$  onza de líquido soluble en el agua y penicilina G de procaína pulverizada. Para cada galón de agua de mar en los baldes se usó 1 mililitro de terramicina. Se mezcló una pequeña cantidad de terramicina con 300,000 unidades de penicilina

en un recipiente de plástico para cada 400 marcas. Sólo se agregó terramicina suficiente para cubrir las marcas, de modo que la mezcla de antibióticos se gastara más o menos al mismo tiempo que las marcas. Cada recipiente para sumergir las cuchillas de los escalpelos contenía 150,000 unidades de penicilina y terramicina suficientes para preparar aproximadamente 1½ mililitros de mezcla de antibióticos para la inmersión de la parte de la cuchilla del escalpelo que penetraba en los peces.

Para el tercer grupo de experimentos (junio 30) las marcas que iban a usarse en los peces que debían recibir tratamiento antibiótico fueron dejadas en alcohol etílico al 70 por ciento por más o menos una hora antes de ser aplicadas, y luego secadas completamente al aire y con toallas de papel.

#### OBSERVACIONES SOBRE LAS MARCAS, ANESTESICOS Y ANTIBIOTICOS

##### Marcas externas

Siete de los tipos de marcas externas: de cazonete, de "tallarín" con gallardete, de "tallarín" con gaza, hidrostática, de Atkins, de grapa y de disco, son esencialmente similares en cuanto a que se aplican a través de la carne en la región dorsal del pez cerca de la base de la aleta dorsal. Después de un corto tiempo todas estas marcas se desprendían de la superficie dorsal del cuerpo cuando se agrandaban los huecos por donde habían sido insertadas. Una vez que las marcas se desprendían, las heridas sanaban rápidamente dejando cicatrices que escasamente podían notarse. Las marcas de disco resultaron difíciles de aplicar porque el dardo era tan flexible que no atravesaba fácilmente la piel y la carne del pez y las púas eran tan duras que costaba trabajo hacerlas pasar por el disco. Después de haber marcado 16 peces se abandonó el esfuerzo. Sin embargo, tal vez podrían hacerse modificaciones para corregir estos defectos.

Las marcas de dardo, aunque algo diferentes en principio de las marcas antes mencionadas, se desprendían también al agrandarse los huecos por donde fueron insertadas.

Las marcas en el opérculo, originalmente diseñadas para el eperlano ("smelt") (McKenzie, 1950), han sido usadas también para el arenque (McKenzie y Skud, 1958). Se ha observado un desprendimiento considerable de estas marcas en el eperlano, pero no tanto como se encontró después en las anchovetas. Los huecos en el opérculo se agrandaban y las marcas se desprendían y en otros casos las marcas se salían a través del borde posterior del opérculo. Una vez desprendida la marca, el opérculo sanaba con rapidez, sin dejar cicatrices.

Las marcas circunvertebrales son básicamente diferentes de las que atraviesan el cuerpo de los peces sólo por la espalda. Los movimientos naturales de los peces causan que estas últimas destruyan la piel de la superficie dorsal, de modo que muy pronto se perdían. Sin embargo, se pensó que los movimientos naturales de los peces con marcas circunvertebrales ocasionarían la destrucción del tejido cerca de la columna

vertebral en la mayoría de los casos, en vez de cerca de las superficies dorsal y ventral; de este modo las marcas habrían sido retenidas por períodos más largos que las otras marcas externas, pero podrían matar a los peces al llegar a la columna vertebral. Ambas posibilidades resultaron ser ciertas por lo menos parcialmente. No obstante, las marcas no fueron retenidas el tiempo suficiente como para ser de mucha utilidad y, como era de esperarse, la mortalidad fué más intensa entre los peces que no lograron desprendérse de sus marcas bastante rápidamente.

#### Marcas internas

Los primeros que usaron marcas internas de metal fueron Rounsefell y Dahlgren (1933), y desde entonces han sido aplicadas extensamente en una variedad de peces parecidos al arenque.

En 1958, como se dijo anteriormente, se empleó el método de Hourston (1959) usando la hoja de una tijera para hacer la incisión. Casi todos los peces murieron en el término de pocos días después de la marcación. Hourston experimentó resultados similares: de 390 peces marcados y mantenidos "en varias clases de viveros y estanques", ninguno sobrevivió. La modificación de la técnica en 1959, según se describió previamente, alcanzó una decidida mejora en la supervivencia de los peces.

El 20 de mayo de 1959 se hicieron experimentos a fin de determinar el mejor sitio para hacer la incisión por donde insertar las marcas. Se pensó en cortar cerca del extremo posterior de la cavidad del cuerpo con el objeto de asegurarse que la marca no hiciera contacto con órganos internos exceptuando el intestino, y sin que fuera tan atrás como para dificultar mucho el insertar la marca, lo que se hacía posteriormente en aquel experimento. Se descubrió que al hacer la incisión sobre la inserción de las aletas ventrales se confirmaba el criterio antes expuesto y la hemorragia no fué severa.

Los datos que se dan más adelante en este estudio indican que la mayoría de los desprendimientos de marcas ocurría dentro de las 2 ó 3 semanas posteriores a la marcación. Cuando las heridas no se infectaban o agrandaban, aparentemente sanaban en 1 semana. Es probable que generalmente la pérdida de marcas fuera el resultado de la infección y agrandamiento de las heridas, ya que los cortes normales son tan pequeños que el desprendimiento de las marcas no sería posible.

Se encontró que algunos de los peces marcados que murieron varias semanas o meses después de la marcación tenían la marca localizada entre los intestinos. En consecuencia, es probable que este hecho no sea necesariamente fatal, pues los peces habrían muerto poco después de la marcación, pero debe evitarse en lo posible.

El 17 de agosto de 1959 se marcaron dos grupos de peces. En ambos casos la incisión se hizo sobre la inserción de las aletas ventrales, pero en el segundo grupo (Experimento 9c) la hemorragia se produjo en

forma más severa que en el primer grupo (Experimento 10c). Sin embargo, no hay indicación de que la hemorragia fuera causa de mortalidad ya que el segundo grupo sobrevivió mejor que el primero.

#### Colorantes y pigmentos

En algunas oportunidades en años recientes, los colorantes de anilina han sido probados en varias especies de peces y de invertebrados, especialmente en camarones. Hay información sobre el éxito en los experimentos en el terreno hechos con estrellas de mar (Feder, 1955) y con camarones (Costello, 1959), pero no con peces. Algunos trabajos (Dunn y Coker, 1951; Anónimo, 1952; Carranza, 1953; Al-Hamid, 1954; Davis, 1955; Dunstan y Bostick, 1956; Chapman, 1957; Jackson, 1959) han sido publicados sobre el uso de colorantes de anilina en varias especies de peces, pero ninguno de los resultados ha tenido mucho éxito. Sin embargo, casi todos los investigadores concuerdan en que el azul tripano es un colorante superior, como se comprobó también con las anchovetas.

Se usaron soluciones al 1 por ciento, porque Dawson (1957) encontró que era la mejor concentración para marcar los camarones. Los colorantes fueron disueltos primero en pequeñas cantidades de agua destilada, y estas soluciones fueron a su vez disueltas en agua de mar filtrada. Se siguió este procedimiento porque se temió que los colorantes no se disolvieran directamente en el agua de mar. Las soluciones fueron preparadas el día anterior a su empleo, porque se sospecha que soluciones de varias semanas han causado mortalidad en el camarón (Anónimo, 1959).

Cinco de los siete peces marcados con verde sólido FCF que murieron el primer día, y uno de los doce que murieron el segundo día, tenían la coloración verde difundida en todo el cuerpo en lugar de solamente en el sitio de la marcación. Este fenómeno no ocurrió con los otros colorantes.

Davis (1955) usó por primera vez el látex líquido para marcar peces y posteriormente ha sido usado por Chapman (1957) y Gerking (1958). Las marcas del látex no se notaron bien el día en que los peces fueron inyectados, ni al siguiente. Sin embargo, después de 48 horas eran claramente visibles en forma de manchas largas y angostas que seguían la dirección de la aguja. Las marcas permanecieron claramente visibles durante 1 semana más o menos. El 2 de junio, 14 días después de la marcación, las marcas sólo podían verse en muy pocos de los peces en el vivero. Al examinar los peces se notó que el látex se salía a través de la piel. Poco después de la desaparición de la marca, el lugar en que había estado podía ser distinguido por la falta de escamas allí. Sin embargo, las escamas se regeneraron pronto en la región afectada, de modo que era imposible decir en dónde había estado la marca.

Gandolfi-Hornyold (1929a, 1929b) fué el primero que informó acerca del uso de los pigmentos inertes para marcar peces. Kask (1936), Hickling (1945), Gerking (1953), Davis (1955), Chapman (1957) y Clemens y Snead (1959) usaron tinta china para marcar varias especies de peces. Wigley (1952) y Dunstan y Bostick (1956) emplearon una

variedad de substancias químicas en larvas de lampreas y salmones del Pacífico, respectivamente.

Las marcas de óxido férrico se veían más claramente que las de sulfuro de cadmio en la base de la aleta anal. Ninguna se veía bien en la parte dorsal de los peces. Estas marcas desaparecieron más o menos a la misma tasa y forma que las de látex líquido.

Jackson (1959) empleó fluoresceínas y un poliestireno luminoso para marcar varias especies de peces de agua dulce. Se necesitó una lámpara especial para distinguir las marcas.

La "Rhodamine 6 GDN extra" y el "Brilliant acid yellow 8G" se conocen como fluoresceínas de tipo "técnico", mientras que la "Thiazine red R" se le llama fluoresceína de tipo "farmacéutico". Sólo esta última es soluble en el agua, pero las partículas de las otras dos son tan finas que podrían usarse las mismas jeringas y agujas empleadas con las fluoresceínas solubles. Sin embargo, las dos fluoresceínas insolubles fueron rápidamente expulsadas a través de la piel en la misma forma que los pigmentos inertes, de modo que aparentemente sólo las fluoresceínas solubles en el agua deberían usarse para marcar anchovetas. El "Brilliant acid yellow 8G" se veía muy débilmente, lo mismo que el pigmento amarillo inerte, el sulfuro de cadmio. Las marcas de "Rhodamine 6 GDN extra" desaparecieron pronto y quedaron cicatrices necróticas en donde habían estado las marcas; las de "Thiazine red R" actuaron como las de los colorantes de anilina: se descoloraban en forma gradual pero probablemente sin ser expulsadas a través de la piel. Unas pocas, sin embargo, dejaron cicatrices necróticas en donde se insertó la marca, lo que no fué notado con ninguno de los colorantes de anilina. Las marcas de "Thiazine red R" fueron menos claras que cualesquiera de las producidas por los colorantes de anilina y se descoloraban más rápidamente. Las fluoresceínas que ocasionan la menor mortalidad y que sean retenidas el mayor tiempo tendrán que ser determinadas mediante una mayor experimentación.

Las fluoresceínas se pueden distinguir por su propiedad de relucir en presencia de la luz ultravioleta cuando no hay otra luz. En consecuencia, se obtuvo un aparato detector para aprovechar las ventajas de esta característica. Se creyó que quizás las fluoresceínas se descoloraban hasta el punto de hacerse invisibles a simple vista, pero que podrían apreciarse con el aparato detector. Sin embargo no resultó como se creía porque a pesar de que las fluoresceínas relucían claramente en el detector cuando se echaban pequeñas cantidades en un pedazo de papel absorbente, en cambio se hacían completamente invisibles cuando se inyectaban en peces muertos. Por lo tanto, el aparato no fué de utilidad para detectar las marcas porque aparentemente ni la luz ultravioleta ni la resultante de la radiación fluorescente penetran la piel de los peces.

### Anestésicos

En años recientes se ha practicado extensamente la anestesia de los peces. McFarland (1959, 1960) hizo un completo estudio de esta materia, con énfasis en la anestesia de larga duración para facilitar el transporte de los peces.

Como en el caso de los colorantes de anilina, los anestésicos fueron disueltos primero en pequeñas cantidades de agua destilada y las soluciones resultantes fueron a su vez disueltas en agua de mar. Se siguió este procedimiento porque se temió que los anestésicos no podrían disolverse directamente en el agua de mar.

El "Chlorotone" (hidrato de clorobutenol) ha sido usado para anestesiar a los peces que fueron marcados y devueltos al agua en 1957. No se efectuaron experimentos de mantenimiento de los peces en viveros al emplear este anestésico, pero las observaciones rutinarias indicaron que operaban satisfactoriamente.

El 16 de junio de 1959 se hicieron algunas pruebas cortas sobre la eficacia relativa del MS 222 y de la quinaldina. El primero es hasta ahora el anestésico usado más ampliamente (Anónimo, sin fecha) pero Muench (1958) expuso que el segundo era superior. Se puso 10 peces en un recipiente de poca profundidad que contenía aproximadamente 2 litros de una solución de MS 222 a una concentración de 0.2 gramo por galón y otros 10 fueron puestos dentro de la misma cantidad de solución de quinaldina a una concentración de 10 partes por millón. Cada grupo de peces fué mantenido en la solución durante 3 minutos, después de los cuales habían alcanzado un estado de anestesia parcial. Luego fueron cambiados a agua fresca de mar en el tanque de la canoa, en donde se efectuó su completo recobro en un término de 5 a 10 minutos. Las reacciones de los peces puestos en cada una de las dos soluciones fueron más o menos las mismas, pero lo que recibieron el tratamiento de quinaldina dieron la impresión de mantenerse un poco más tranquilos y de recobrarse un poco más rápidamente. Debido a estos resultados y a las superiores ventajas alegadas por Muench (1958), la quinaldina fué escogida provisionalmente como el anestésico que convenía usar.

El 17 de agosto se hizo el plan para efectuar otros ensayos con quinaldina. Sin embargo, había ocurrido un cambio químico y no se disolvía en el agua. Por esta razón y porque las pruebas a que se hará referencia más adelante en este trabajo indicaron que podría causar mortalidad, se abandonó el uso de la quinaldina en favor del MS 222.

En 1960 se hicieron ensayos mucho más completos con anestésicos. Además del MS 222, se probó el Dormison y el alcohol amílico terciario. Los experimentos se efectuaron el 10 de mayo con peces recientemente capturados a fin de determinar las concentraciones más apropiadas para usar con cada anestésico. Diez peces fueron echados en cada una de una serie de baldes de plástico de  $2\frac{1}{2}$  galones que contenían 2 galones de agua de mar y varias concentraciones de los tres anestésicos. Se dejó a los

peces en los baldes por lo menos 2 horas, y se registró (Tabla 4) los períodos de tiempo requeridos para alcanzar los diversos estados de anestesia descritos por Wilimovsky (1959) para el arenque del Pacífico, *Clupea pallasi*. Los estados descritos por Wilimovsky son los siguientes:

Estado 0—Normal, los peces nadan suavemente; están en condición de cambiar libremente de profundidad. Latidos operculares de 90 a 120 por minuto aproximadamente.

Estado I-1—Los peces parecen estar angustiados; se caracteriza por movimientos de natación muy activos hacia arriba en las esquinas del tanque.

Estado I-2—Los peces parecen bailar de cabeza o sobre sus colas; sacan frecuentemente la cabeza fuera del agua.

Estado II-1—Los peces se voltean de un lado a otro o nadan con el vientre hacia arriba; reaccionan todavía al ser tocados.

Estado II-2—Cesan los movimientos de natación; están con el vientre hacia arriba en la superficie o en el fondo; no reaccionan al ser tocados; latidos operculares de 90 a 50 por minuto.

Estado III—Los peces yacen sobre el dorso en el fondo; latidos operculares irregulares, de 50 a 3 por minuto; los latidos del corazón son visibles por el reflejo de la aleta pectoral con un promedio de 50 por minuto; la sangre comienza a acumularse subcutáneamente en la base de todas las aletas y en los lados.

Estado IV—Cesan los movimientos operculares o se manifiestan irregularmente con uno o dos golpes por minuto; los latidos del corazón son de 50 a 15 por minuto, y aumentan rápidamente a un ritmo de 80 a 90 por minuto justo antes de morir; se pronuncia la acumulación de la sangre; el recobro es dudoso después de 1 ó 2 minutos y la muerte inviablemente sobreviene después de los 5 minutos.

El oxígeno del agua de los baldes fué renovado aproximadamente cada 15 minutos con el agitador eléctrico. Después de poco más de 2 horas, los peces fueron sacados de los baldes y puestos en secciones separadas de los viveros para su observación. Las dos excepciones fueron las de los peces anestesiados con las dos concentraciones más débiles de alcohol amílico terciario; éstos fueron descartados después de 28 minutos porque el anestésico tuvo muy poco efecto en ellos a esas concentraciones.

Se dejó a los peces en las soluciones anestésicas durante 2 horas a fin de determinar las concentraciones de cada anestésico que pudieran mantener el estado de inmovilidad deseada durante largos períodos de tiempo, y de asegurar que la concentración a usarse estaba por debajo de la dosis letal. Desgraciadamente todos los peces murieron en los baldes excepto los que habían sido anestesiados con 0.2 gramo por galón de MS 222, los anestesiados con una solución de 2 a 4 mililitros por galón de alcohol amílico terciario, y dos de los anestesiados con 2 mililitros por galón de Dormison. A los peces anestesiados con 0.2 gramo de

MS 222 por galón se les dejó toda la noche en una sección de uno de los viveros y fueron encontrados muertos a la mañana siguiente.

De conformidad con los resultados que aparecen en la Tabla 4, se escogieron las siguientes concentraciones de anestésicos: MS 222, 0.4 gramo por galón; Dormison, 6 mililitros por galón; alcohol amílico terciario, 10 mililitros por galón. Para el grupo de los experimentos efectuados el 30 de junio, la concentración de MS 222 fué reducida a 0.2 gramo por galón. Aún cuando estas concentraciones eran nocivas para los peces cuando se les dejaba en el anestésico por varias horas, se confiaba que los efectos dañinos serían insignificantes en la práctica debido al corto período empleado para anestesiarlos.

Una experiencia posterior demostró que no resultaba práctico el empleo de Dormison ni de alcohol amílico terciario debido a su acción lenta.

#### Antibióticos

Se ha publicado muy poco sobre el uso de antibióticos para controlar la infección en los peces. Van Duijn (1955) recomendó aureomicina, terramicina, cloromicetina, estreptomicina y penicilina para varias enfermedades de peces tropicales en los acuarios. Oppenheimer (1955) ensayó un gran número de antibióticos solos y combinados y encontró que la penicilina y la estreptomicina eran los más efectivos para reducir el número de bacterias en el agua de mar y para aumentar la supervivencia de los huevos de *Sardinops caerulea*, *Gadus callaris* y *Pleuronichthys* sp. Irwin (1959) trató con buenos resultados el podre de las aletas en *Hybognathus* spp., *Gambusia affinis* y *Pimephales promelas* con el empleo de terramicina. Norris, Brocato, Calandrino y McFarland (1960) mencionan el uso de terramicina para la prevención de enfermedades de origen bacterial durante el transporte. Sneed y Clemens (1960) encontraron que la inclusión de penicilina en el material pituitario injectado en *Ictalurus punctatus* eliminó lesiones peritoneales, infecciones y adherencias.

Se escogió la penicilina y la terramicina para los experimentos a que se refiere este estudio. Cada ejemplar marcado debía recibir aproximadamente 750 unidades de penicilina ó 25 unidades por gramo según el peso del pez. En contraste, un ser humano de 150 libras recibe solamente unas 4½ unidades por gramo con una dosis estándar de 300,000 unidades de penicilina. Sin embargo, parte de la penicilina se desperdió inevitablemente en el procedimiento de insertar las marcas y, de todas maneras, las cantidades en exceso de lo que se necesita no parece que son nocivas para los peces. La terramicina fué empleada en una concentración de 1 mililitro por galón de agua de mar, que es equivalente a más o menos 8 partes por millón. Esto es mucho menos que las 50 partes por millón recomendadas por Oppenheimer (1955) o que los 50 miligramos por galón especificados por van Duijn (1955) y por Norris, Bro-

cato, Calandrino y McFarland (1960), porque no se tuvo en cuenta en el momento que tan pequeña porción de líquido era terramicina activa.

Si bien es cierto que los antibióticos previenen la infección, también es cierto que demoran el cierre de las heridas. No se sabe todavía si esta demora ocasiona o no mayor número de desprendimiento de marcas.

Para los experimentos del 30 de junio, según se dijo anteriormente, las marcas que iban a ser usadas en los peces que debían recibir tratamiento antibiótico fueron sumergidas en alcohol etílico al 70 por ciento. Un procedimiento similar había sido seguido por Fridriksson y Aasen (1950), pero el método empleado para el presente estudio resultó que tomaba demasiado tiempo.

## RESULTADOS

### Supervivencia

Las Tablas 5, 6 y 7 proporcionan datos detallados sobre la mortalidad de los peces en los experimentos de 1958, 1959 y 1960.

El número de peces que sobrevive en cualquier día determinado puede ser expresado por la fórmula:

$$b_i = a - c_i \quad (1)$$

en donde

$a$  = número de peces al comenzar el experimento,

$b_i$  = número de peces sobrevivientes el día "imo" (enésimo) después de la marcación, y

$c_i$  = número de peces que murieron al día "imo".

Para las comparaciones de los experimentos es conveniente tener el mismo número de peces al comenzar cada experimento, mientras que en la práctica no se usan siempre las mismas cantidades. Consecuentemente, para ajustar los datos a una base común, la fórmula debe ser modificada de consiguiente. Como la mayoría de los experimentos se comenzaron con 200 peces, este número ha sido usado como la base común.

Además, el número de peces tenidos en cuenta cuando los experimentos terminaron, en general discrepó ligeramente con el número de peces registrados cuando dichos experimentos comenzaron. Se supone que estas discrepancias son debidas a errores cometidos al contar las cantidades de peces muertos sacados de los viveros, mientras que la cuenta de los peces vivos introducidos en los viveros al comenzar los experimentos y la de los sobrevivientes sacados cuando dichos experimentos terminaron se presume que sean correctas. Es conveniente ajustar los datos para corregir por estos errores, prorrataeando los ajustes sobre la duración de los experimentos.

Para el propósito de la computación de los valores ajustados de las cantidades de peces sobrevivientes se usaron las siguientes fórmulas:

$$a' = 200 \quad (2)$$

$$b'_t = b_t \frac{a'}{a} \quad (3)$$

$$c'_t = a' - b'_t \quad (4)$$

$$b'_{i_t} = a' - \frac{c'_{t_i}}{c_t} c_i \quad (5)$$

en donde

- $a$  = número actual de peces al comenzar el experimento,
- $a'$  = número ajustado de peces al comenzar el experimento,
- $b_t$  = número actual de peces vivos a la terminación del experimento,
- $b'_{i_t}$  = número ajustado de peces vivos el día "imo" después de la marcación,
- $b'_t$  = número ajustado de peces vivos a la terminación del experimento,
- $c_i$  = número de peces registrado como que han muerto hasta el día "imo,"
- $c_t$  = número de peces registrados como que han muerto a la terminación del experimento, y
- $c'_{t_i}$  = número ajustado de peces que habían muerto a la terminación del experimento.

Por ejemplo, en el Experimento 10a con marcas hidrostáticas,  $a = 99$ ,  $b_t = 91$ ,  $c_t = 6$ , e "imo" puede ser igual a 5, o sea el quinto día después de la marcación. Como se anotó que dos peces habían muerto al quinto día después de la marcación,  $c_i = 2$ . Substituyendo los valores respectivos en las ecuaciones,

$$b'_t = 91 \frac{200}{99} = 183.8$$

$$c'_{t_i} = 200 - 183.8 = 16.2$$

$$b'_{i_t} = 200 - \frac{16.2}{6} 2 = 194.6$$

Las Figuras 1, 2 y 3 ilustran gráficamente los resultados de las anteriores computaciones. Exceptuando los experimentos con marcas internas, los datos han sido graficados para los primeros 5 días después de la marcación y de allí en adelante sólo para el décimo, vigésimo y último día de cada mes, y para las fechas en que los experimentos habían terminado. Con respecto a los otros experimentos, los datos han sido graficados a intervalos irregulares que corresponden a las fechas en que los peces muertos fueron examinados para ver si habían retenido sus marcas. En la ordenada se ha empleado una escala logarítmica, con el objeto de mostrar los cambios temporales en las tasas en vez del nú-

mero, de los peces sobrevivientes. Los gráficos abarcan de 2 a 200 peces en la ordenada; sin embargo, en algunos casos se han proyectado a menos de dos peces para lo que se han extendido las líneas a los gráficos inferiores. El día anterior al día en que no quedaban más peces vivos ha sido indicado por una flecha corta apuntando hacia abajo.

#### 1958

La Tabla 5 y la Figura 1 dan los datos de la mortalidad en los experimentos de 1958. Con la excepción de un grupo de experimentos (3b, 4a, 6b y 5b), todos los peces fueron marcados el día en que capturaron o el siguiente. En todos los experimentos se registró alta mortalidad durante los primeros días después de la marcación, excepto en los Experimentos 3b y 4a. Subsiguiente experiencia en 1959 demostró que la mayor parte de la mortalidad habría ocurrido aunque los peces hubiesen sido marcados o no, de modo que hubiera sido conveniente haber mantenido todos los peces en cautividad durante 1 semana antes de la marcación.

Los experimentos de 1958 son difíciles de interpretar desde el punto de vista de la supervivencia porque en la mayor parte de ellos no se usaron peces de control. La única vez en que se usaron peces de control (Experimentos 4b, 2b y 5b), la supervivencia de éstos y la de los peces marcados fué aproximadamente la misma. La mayoría de las grandes variaciones en la supervivencia ocurrida en los experimentos no puede ser atribuída a los efectos diferenciales de las diversas marcas externas. No hay razón aparente, por ejemplo, que explique por qué las pequeñas diferencias en las marcas de cazonete usadas en los Experimentos 1a, 2a y 3a el 8 y 9 de mayo hayan podido causar las grandes diferencias que ocurrieron en la supervivencia. También puede percibirse grandes variaciones en la supervivencia de los grupos de peces marcados con el mismo tipo de marca en diferentes meses (Experimentos 5a y 4a, 6a y 6b).

Sin embargo, es probable que las marcas internas causaran algo de mortalidad porque en ambos experimentos (5b y 5c) la mortalidad fué más considerable que en los otros efectuados aproximadamente en la misma época del año. La técnica empleada en 1958 fué modificada en consecuencia para los experimentos con marcas internas en 1959.

#### 1959

En 1959 se dejó a todos los peces en los viveros durante 1 semana antes de su marcación. La mortalidad fué bastante intensa durante unos pocos días posteriores a la captura, pero después se redujo considerablemente (Tabla 18). Los peces que quedaron en los viveros hasta el momento en que se efectuó la marcación se encontraban en buenas condiciones y aparentemente se habían adaptado bien a la vida en cautividad. Los pocos que en el momento de la marcación estaban maltratados o en condiciones desfavorables fueron descartados. La Tabla 6 y las Figuras 2 y 3 dan los datos sobre la mortalidad en los experimentos de 1959.

Parece que las marcas externas no fueron una causa significativa de la mortalidad, ya que solamente los peces con las marcas de grapa tuvieron una supervivencia menor que la de los peces de control. La mortalidad sólo fué ligeramente mayor en este grupo y ésto pudo haber sido ocasionado por falta de técnica en la marcación o por haber seleccionado los peces más débiles para ser marcados con este tipo. Esta última posibilidad será discutida en mayor detalle en una sección posterior de este estudio.

En sólo uno de los cuatro experimentos, el 8b, en que se usaron marcas internas, ocurrió realmente una intensa mortalidad poco tiempo después de la marcación. Aún en este caso la mortalidad podría no haber ocurrido si los peces no hubieran sido anestesiados con quinaldina. Esta posibilidad será también discutida más adelante.

La mayor supervivencia de los peces marcados del Experimento 5f, comparada con la de los peces de control del Experimento 1b, puede atribuirse probablemente a la selección de los peces más fuertes para la marcación. Este asunto será igualmente discutido posteriormente en este informe.

La supervivencia fué mayor en los peces del Experimento 9c que en los del Experimento 10c, lo que indica que los peces marcados anteriormente con marcas internas puede esperarse que sobrevivan en mayor número que los marcados posteriormente. (Además, la tasa del desprendimiento de marcas del grupo de peces marcados en la forma primariamente dicha fué más baja, y es más fácil aplicar las marcas anteriormente que posteriormente.)

Es muy probable que los colorantes de anilina causaran algo de mortalidad; la más alta se registró en el experimento con el azul tripano y la más baja con el verde sólido FCF. Se cree que parte de la mortalidad observada en el experimento con el azul tripano pudiera haber sido evitada mediante el empleo de una técnica mejor; tal vez la mortalidad debida a la marcación podría ser eliminada completamente con cualquiera de los tres colorantes.

Las marcas con pigmentos inertes no parecen haber causado mortalidad de significación en ninguno de los experimentos.

Una de las tres fluoresceínas, la "Rhodamine 6 GDN extra", causó muy intensa mortalidad, y en cambio las otras dos no. Es muy probable que esta fluoresceína sea nociva para los peces en la concentración usada (3 por ciento). Tal vez sería posible que un especialista determine por su composición química cuál de las fluoresceínas sería dañina para los peces.

En los Experimentos 11b (peces de control sin anestesia), 2d (peces de control con anestesia) y 8b (peces marcados con anestesia), se probó el efecto en la supervivencia usando quinaldina como anestésico. Los peces marcados sufrieron una alta mortalidad inicial de 64 peces en los

3 primeros días después de la marcación. No se observó una alta mortalidad inicial en los otros tres grupos de peces con marcas internas (Experimentos 5f, 9c y 10c), ninguno de los cuales fué anestesiado con quinaldina. Se registró una mortalidad algo más alta en los peces de control anestesiados (15 en los 3 primeros días) que en los no anestesiados (ninguno en los 3 primeros días). En consecuencia parece posible que la quinaldina en la concentración usada, cuando se combina con el choque sufrido por los peces a causa de la marcación, puede ocasionar una mortalidad que no hubiera ocurrido si no se hubiese usado el anestésico.

La mortalidad fué más alta en un grupo de peces de control no anestesiados (Experimento 11c) que en un grupo de peces de control anestesiados con MS 222 (Experimento 12c); por lo tanto, no hay evidencia por medio de estos experimentos de que este anestésico es nocivo para los peces.

#### 1960

La Tabla 7 contiene los datos sobre la mortalidad en los experimentos de 1960.

Los peces con marcas circunvertebrales murieron más rápidamente en julio que los peces de control, y en cambio en agosto sucedió exactamente lo contrario, de modo que el número de supervivientes el día en que terminaron los experimentos fué casi idéntico. Si la mortalidad realmente ocurrió en el tiempo indicado es algo que no ha podido comprobarse porque gran número de peces no fueron tenidos en cuenta, particularmente entre los peces de control. En una sección posterior de este informe se demuestra que la mayoría de los peces que murieron antes de finalizar el experimento habían sido marcados, en tanto que casi todos los supervivientes no lo habían sido. Esto se interpreta en el sentido de que las marcas causan mortalidad después de varias semanas y que los peces que las pierden tienen una mejor oportunidad de sobrevivir que los que las retienen.

Los experimentos de 1960 con marcas internas proporcionan la oportunidad de estudiar los efectos de los tres siguientes factores en la supervivencia: marcación, anestesia y uso de antibióticos; en este orden son tratados aquí. Los efectos se estudian por tres diferentes métodos: comparación de la mortalidad durante los 3 primeros días después de la marcación, comparación de la mortalidad desde el cuarto día hasta la terminación de los experimentos, y comparación de la supervivencia al finalizar los experimentos. El período de 3 días ha sido escogido para estudiar los efectos a corto término producidos por la marcación y la anestesia porque la mayor parte de la intensa mortalidad inicial se ha registrado en este período. En los experimentos de mayo 11-13 y de mayo 27-29, se incluyen los datos sobre la mortalidad hasta mayo 15 y mayo 31, respectivamente.

Los datos sobre la mortalidad se ajustan por el método expuesto al comenzar esta sección, con la excepción de que el número de peces comprendido en los experimentos no se ajusta a 200. Los valores de  $a$  son usados en vez de  $a'$  porque la significación de las diferencias en la supervivencia puede ser más fácilmente evaluada cuando las cifras se mantienen en su magnitud original.

Excepto dos, todos los experimentos con los grupos marcados en mayo 11-13 y todos los del grupo marcado el 30 de junio fueron terminados en las mismas fechas, lo que convierte en un asunto simple las comparaciones en la supervivencia a esas fechas. La terminación un poco más temprana de dos de los experimentos de mayo 11-13 ha sido ignorada ya que los errores resultantes no tienen consecuencia. La mayoría de los experimentos comenzados en mayo 27-29 fueron terminados el 30 de junio; sin embargo, uno de ellos finalizó el 27 de junio y cuatro más se continuaron hasta el 1o. de septiembre. También se ignoró la terminación más temprana de este solo experimento y, para fines comparativos, los supervivientes hasta el 30 de junio han sido computados para los otros cuatro experimentos. Los cálculos han sido hechos también por el método referido al comienzo de esta sección, excepto que el número de peces marcados, 165 ( $a$ ), en cada uno de estos experimentos es substituido nuevamente por 200 ( $a'$ ) por la misma razón que se dió anteriormente.

En la discusión que sigue más adelante, los resultados de ciertos experimentos han sido combinados con el propósito de reducir el número de comparaciones que deben hacerse y de aumentar el significado de dichas comparaciones al tener mayor número de peces en los grupos que se comparan. Por ejemplo, cuando se compara la supervivencia de los peces marcados y la de los no marcados, los primeros son agrupados sin tener en cuenta los anestésicos o antibióticos usados, y lo mismo se hace con los peces de control. De modo similar, los sobrevivientes de los peces marcados con o sin antibióticos se combinan al comparar los efectos con los anestésicos o viceversa. Sin embargo, para las comparaciones que conciernen a los anestésicos, los datos sobre los peces marcados se presentan tanto separadamente como combinados. No hay evidencia de que se produjera interacción alguna o efecto combinado entre ninguno de los tres tratamientos (marcación, anestesia o uso de antibióticos), de modo que este procedimiento parece justificado. La Tabla 7 contiene los datos de cada uno de los experimentos.

La Tabla 8 muestra que la mortalidad de los peces marcados fué definitivamente mayor que la de los no marcados durante los 3 primeros días posteriores a la marcación. Se marcó doble número de peces en relación con los peces de control, de modo que si la marcación no hubiera tenido efecto la mortalidad de los peces marcados habría sido solamente dos veces la magnitud de la de los peces de control; éste no fué el caso en ninguno de los tres grupos de experimentos. De la misma manera, la supervivencia de los peces marcados habría sido el doble de la de los

peces de control; tampoco fué éste el caso en ninguno de los experimentos (Tabla 9).

La Tabla 10 compara la mortalidad durante los 3 primeros días posteriores a la marcación, con respecto a los tres anestésicos y a los peces de control. Este se considera el mejor método para efectuar comparaciones, ya que la mortalidad que ocurre mucho tiempo después de la marcación no parece haber sido causada por la anestesia (McFarland, 1960). Aunque los resultados no han sido definitivamente claros, los tres anestésicos parecen ser algo nocivos para los peces. La Tabla 11, que compara la supervivencia de los peces, también indica que todos los anestésicos son dañinos. Ambas tablas tienden a mostrar que el Dormison es el más nocivo de los tres anestésicos, seguido por el MS 222 y por el alcohol amílico terciario. Además, es obvio que el Dormison y el alcohol amílico terciario no son convenientes para el uso práctico por la forma lenta en que anestesian a los peces.

Para los experimentos del 30 de junio, la concentración de MS 222 fué reducida de 0.4 a 0.2 gramo por galón. Los resultados de todos los experimentos con MS 222 y con los peces de control se muestran en las Tablas 12 y 13. En los dos primeros grupos de experimentos, el MS 222 parece ser dañino, pero en la concentración más baja empleada en los experimentos del 30 de junio los peces anestesiados sobrevivieron en condiciones algo mejores que los peces de control. La mortalidad más alta en los peces no anestesiados fué debida tal vez al esfuerzo excesivo (Black, 1958). Aún cuando la supervivencia de los peces anestesiados con MS 222 no fuera más alta que la de los peces de control, o ligeramente más baja, el empleo de este anestésico sería justificable para uso práctico en los experimentos en el terreno por lo significativamente valiosa que es la mayor rapidez a que pueden ser marcados los peces anestesiados.

Los datos de la Tabla 14 demuestran que durante los 3 primeros días después de la marcación ocurrió una mortalidad más intensa entre los peces de control que entre los peces tratados con antibióticos. Desde el cuarto día hasta la terminación de los experimentos la mortalidad fué más alta entre los peces tratados con antibióticos, según se demuestra en la Tabla 15. La Tabla 16 demuestra que la supervivencia al terminar los experimentos fué ligeramente más alta en los peces de control.

El propósito de usar antibióticos fué, desde luego, prevenir la infección. Es mucho más probable que la mortalidad durante los 3 primeros días posteriores a la marcación haya sido causada por los choques combinados de la captura, el manipuleo, la marcación y el confinamiento en el vivero que por la infección, de modo que los datos contenidos en la Tabla 14 pueden ser ignorados. Un total de 161.5 peces de control de los 418.5 disponibles y 232.4 tratados con antibióticos de 471.4 disponibles murieron desde el cuarto día hasta la terminación de los experimentos, diferencia que parece ser altamente significativa. Sin embargo, las pruebas estadísticas para apreciar la validez de esta conclusión son

apropiadas. Cada uno de los seis grupos de peces que figuran en la Tabla 15 fué objeto de una prueba de contingencia de Ji-cuadrado para probar la homogeneidad dentro de cada grupo. Tres de los grupos, el grupo de control del 30 de junio y los grupos de mayo 11-13 y mayo 27-29, tratados con antibióticos no eran homogéneos a un nivel de 5 por ciento. (Para los experimentos de mayo 27-29 se consideró que todos los peces vivos al 30 de junio había vivido hasta la terminación de las pruebas, ya que algunas de éstas finalizaron en esa fecha.) Como la falta de homogeneidad se manifestó en los tres pares de grupos de experimentos, la comparación de esos pares no es un procedimiento apropiado. En consecuencia, la evidencia de que el uso de antibióticos es nocivo para los peces es de dudosa validez y puede ser ignorada mientras no se disponga de más datos.

Las marcas para los peces que debían recibir tratamiento antibiótico en los experimentos del 30 de junio fueron sumergidas en alcohol etílico al 70 por ciento antes de ser aplicadas. Desde el cuarto día después de la marcación hasta la terminación de los experimentos la mortalidad fué más intensa entre los peces con las marcas que habían sido sumergidas en el alcohol que entre los peces de control (Tabla 15), de modo que no hay evidencia de que el uso de alcohol reduzca la mortalidad.

#### *Mortalidad de los peces en los viveros ocasionada por causas extrañas*

La mortalidad de los peces en los viveros ocasionada por causas ajena a los procedimientos experimentales es un asunto de considerable interés e importancia que debe ser examinado en detalle a fin de evaluar mejor la mortalidad ocasionada por la marcación, la anestesia y el uso de antibióticos. Se había mostrado en 1959 que la mayoría de los tipos de marcas causan muy poca o ninguna mortalidad en los peces sanos si se aplican debidamente. Sin embargo, algunas veces los peces pueden morir en grandes cantidades al ser confinados en los viveros antes de la marcación, variando considerablemente la intensidad de la mortalidad de un lote a otro. Como el principal objetivo en 1959 fué determinar la extensión del desprendimiento de marcas, se adoptó la práctica de mantener a los peces en los viveros durante 1 semana más o menos antes de proceder a marcarlos. Este procedimiento resultó ser excelente ya que la mortalidad fué generalmente intensa al principio y luego bajó a cifras casi insignificantes, dejando un residuo de peces bien adaptados a la vida en cautividad.

Las Tablas 17, 18 y 19 indican la mortalidad de los peces no marcados ocurrida durante los primeros días posteriores a la captura en 1958, 1959 y 1960. Algunos de éstos eran peces de los experimentos de control y otros eran peces que fueron mantenidos en los viveros como medida preparatoria para la marcación. En 1958 se capturaron aproximadamente 486 peces el 28 de agosto y se mantuvieron en cautividad por 1 día, durante el cual 20 de ellos murieron. De los restantes, 189 fueron usados en el Experimento 4b, un grupo de control. Se calcula que más o menos 8 de los 20 peces que murieron durante el primer día hubieran formado

parte del experimento de control si los experimentos hubieran sido comenzados el mismo día en que los peces se capturaron, y los 20 peces habrían sido divididos proporcionalmente entre los tres experimentos empezados el 29 de agosto. En 1959 y 1960 se empleó más de un día para capturar los peces, y las pescas obtenidas en diferentes días fueron mezcladas, lo que tiende a obscurecer algo los datos. Por ejemplo, la mortalidad del 12 de mayo de 1959 afectó a los peces capturados el 11; la del 13 de mayo a los peces capturados el 11 y 12 de mayo, y la de mayo 14-19 a los del 11, 12 y 13 de mayo. Las referidas tablas, sin embargo, demuestran claramente la intensa mortalidad ocurrida durante los primeros días posteriores a la captura y el rápido descenso de la mortalidad de allí en adelante. Suehiro (1933) notó una tendencia similar en la mortalidad de la *Sardinia melanostica* y *Engraulis japonicus*, lo mismo que Janssen y Aplin (1945) y Loukashkin y Groody (1955) en *Sardinops caerulea*. Las Figuras 2 y 3 muestran que generalmente no ocurrió una mortalidad significativamente mayor durante los primeros días después de la marcación.

En las Tablas 20, 21 y 22 se dan algunos datos sobre la supervivencia entre el tiempo de la captura y de la marcación y la supervivencia inmediatamente después de la marcación en 1958, 1959 y 1960.

Durante 1958, en todos los casos con excepción de tres, la mortalidad dentro de los primeros días posteriores a la captura fué tan alta que casi dejó sin valor a los experimentos. Las excepciones fueron los grupos de los peces capturados el 8 de mayo, 4 y 5 de junio y 28 de agosto. La intensa mortalidad dentro de los primeros días posteriores a la captura probablemente habría ocurrido aún cuando los peces no hubiesen sido marcados. Las marcas internas grandes aparentemente constituyeron una causa significativa de mortalidad, y probablemente también las pequeñas marcas internas, pero es dudoso que las otras marcas mataran tantos peces. La mortalidad fué tan intensa en octubre que no se intentó siquiera marcar los peces capturados en ese mes.

En 1959, la mortalidad durante la primera semana después de la captura fué de 30 por ciento en mayo, 19 por ciento en junio, 6 por ciento en julio y 33 por ciento en agosto (Tabla 23). Según estos datos, junio y julio parecen ser los mejores meses para la marcación desde el punto de vista de la resistencia de los peces.

En los experimentos de mayo 11-13 de 1960 se usaron peces que demostraron estar en condiciones desventajosas para la supervivencia en los viveros. En consecuencia, hubo que probar la capacidad de los peces para sobrevivir en cautividad antes de repetir los experimentos. Los peces fueron capturados en dos áreas diferentes, Ensenada Vique y Panamá Viejo, el 23 y 24 de mayo, respectivamente, y se pusieron 300 de cada área en secciones separadas de los viveros. Como estos peces sobrevivieron en buenas condiciones, se capturaron otros para los experimentos

en los viveros durante mayo 26-29. El tiempo fué borrascoso el 26 de mayo y todos los peces murieron cuando eran transportados a la Isla Taboga. Los peces capturados el 27 de mayo, que eran del área de Ensenada Vique, sobrevivieron bastante bien; el 28 de mayo solamente murieron 61 de los 600 capturados. La mortalidad de los peces de control (14 en 200) fué algo más alta que la experimentada el primer día de confinamiento por los peces capturados en la misma área el 23 de mayo (2 en 300), pero no tan alta como para reducir seriamente la efectividad de los experimentos. No fué posible saber más sobre la mortalidad de los peces capturados el 27 de mayo porque los peces capturados el 28 y 29 fueron mezclados con ellos. No se pudo pescar ninguno en Ensenada Vique ni el 28 ni el 29, de modo que tuvieron que obtenerse en Isla Verde. Los peces de Isla Verde demostraron ser considerablemente más débiles que los capturados en Ensenada Vique el 23 y el 27 de mayo y como resultado se registró una alta mortalidad.

El 27 de junio se pescaron más anchovetas para probar su capacidad de sobrevivir en cautividad. Estos peces eran muy grandes, se encontraban en su segundo año de vida, o algunos de ellos posiblemente en su tercer año (Howard y Landa, 1958), en lugar de su primer año como están la mayoría de las anchovetas. Experiencia previa había demostrado que estos peces grandes son notoriamente inadecuados para vivir en cautividad, de modo que no fué inesperada la mortalidad casi total que sufrieron.

La supervivencia de los peces marcados el 30 de junio fué considerablemente mejor que la de los que se usaron para los experimentos de mayo 11-13 y de mayo 27-29.

La Tabla 23 muestra que la habilidad para sobrevivir en cautividad fluctúa considerablemente durante cortos períodos de tiempo en una sola estación. En 1960, por ejemplo, los peces capturados en Ensenada Vique sobrevivieron mejor que los capturados pocos días más tarde en Isla Verde. No se sabe si los grupos individuales de peces varían o no en su resistencia con el paso del tiempo o si los peces fuertes y los débiles se mueven o no de un área a otra. Los pescadores conocen bien las grandes variaciones en la supervivencia de los diferentes grupos de anchovetas en los tanques de carnada de sus barcos. Se sabe que algunas veces la intensa mortalidad está relacionada con el tamaño de los peces, la estación, los cambios bruscos de temperatura, demasiada aglomeración, etc., pero a menudo no se conoce la razón.

Hay cierta evidencia de que los peces para los experimentos de 1959 fueron más resistentes que los de 1958 y 1960 ya que 1959 fué el único de los tres años en que no se capturaron peces que experimentaran una mortalidad tan intensa que los hiciera inadecuados para la experimentación. Sin embargo, las variaciones en la supervivencia de los distintos lotes de peces son tan extremas que ésto no ha podido comprobarse.

*Evaluación e interpretación de la validez de los datos de la supervivencia*

En la Figura 1 pueden observarse algunos hechos paradójicos. El 8 y el 9 de mayo de 1958, se marcaron tres grupos de peces con marcas de cazonete (Experimentos 1a, 2a y 3a). Aún cuando los peces de los dos grupos marcados el 8 de mayo procedían del mismo lugar, la mortalidad fué muy diferente. Los peces marcados el 9 de mayo fueron capturados ese mismo día y sufrieron una mortalidad más intensa que cualquiera de la de los dos grupos marcados el 8 de mayo. El diseño de las marcas de cazonete era ligeramente diferente, pero como ha sido demostrado que las marcas externas causan poca o ninguna mortalidad, es casi cierto que las diferencias en la supervivencia fueron debidas a diferencias intrínsecas en los distintos lotes de peces.

Algunos de los resultados obtenidos en 1959 son también difíciles de explicar. En lo que respecta a los peces puestos en los viveros en mayo, la mortalidad fué más intensa entre los del grupo de control (1b) que entre los de los grupos con marcas de cazonete (2c) o con marcas internas (5f). La razón de que ésto haya ocurrido es que posiblemente los peces más débiles se emplearon como peces de control. Ordinariamente, en experimentos de esta clase, casos de tal naturaleza pueden ser evitados usando alternadamente peces de la misma procedencia para cada grupo, conforme se van sacando del recipiente que, en este caso, es el tanque de la canoa. Sin embargo no se siguió este procedimiento a causa de las dificultades físicas que se confrontaban.

No está claro cómo es que se seleccionó a los peces más débiles para los grupos de control, si tal fué el caso. Sin embargo, como los peces de control fueron sacados rápidamente de la canoa para trasladarlos a los viveros, y todos trataban constantemente de evitar su captura, es posible que en esta situación los más débiles tendieran a ser capturados para los grupos de control. Los peces que iban a ser marcados eran capturados mucho más lentamente de conformidad con el tiempo que se necesitaba para efectuar la operación. Sorpresa, más que debilidad, puede haber sido el factor principal en la captura de estos peces.

Otra posible explicación de los hechos paradójicos mencionados anteriormente es la de que pueden haber prevalecido diferentes condiciones en las diferentes secciones. Esto parece ser particularmente admisible cuando mortalidad diferencial ocurrió meses después de la marcación, como fué el caso en los Experimentos 1b, y 2c y 5f, también en los Experimentos 3d y 7b. El 15 de octubre de 1959 hubo un fuerte viento y al día siguiente se encontraron grandes cantidades de peces muertos en las Secciones 7 y 10 (28.3 en 74.6 que habían estado vivos el 15 de octubre y 45.4 en 79.7, respectivamente). Una mortalidad superior al promedio también ocurrió en las Secciones 8 y 9 (8.5 en 66.3 y 5.2 en 109.4, respectivamente), mientras que no se encontró más que 4.1 peces muertos en cualquiera de las otras secciones que contenían hasta 64.4 peces cada una. Según los datos anteriores, parece posible que la posi-

ción de la sección en que los peces estaban confinados tuvo influencia en la supervivencia pero es difícil imaginar cómo ocurrió.

Estos hechos deben ser tomados en cuenta al revisar los datos de la mortalidad. A la luz de este conocimiento debe reconocerse que la interpretación de algunos de los resultados de los experimentos está pendiente de mejor juicio. De esta manera, el hecho de que los peces anestesiados con quinaldina (Experimento 2d) sufrieran una mortalidad algo mayor que la de los peces de control (Experimento 11b), no indica positivamente que la quinaldina es nociva para los peces. Tampoco puede decirse definitivamente que las marcas de grapa fuesen causa de mortalidad, ni que el rojo tripano mató más peces que el verde sólido FCF.

En 1960, habiéndose observado los anteriores hechos, se comprendió la necesidad de marcar alternativamente los peces de los diversos grupos. En consecuencia, fueron marcados en grupos de 10 como se indicó en la sección de Métodos y Material de este informe. Si no se hubiese seguido este procedimiento, es dudoso que la interpretación de los datos pudiera haber sido hecha con grado alguno de confianza. Sin embargo, la marcación de los peces en forma alternativa no eliminó completamente las diferencias inexplicables en la supervivencia. Los experimentos de mayo 11-13 y de mayo 27-29 fueron idénticos, no obstante que las diferencias en los resultados fueron de magnitud significativa tal como para estar fuera del margen de probabilidad de la variación aleatoria. La más sobresaliente de estas variaciones ha sido la baja supervivencia de los peces en los Experimentos 11e y 10e. Estas diferencias inexplicables son desafortunadas, pero en la mayoría de los casos probablemente no impiden la interpretación correcta de los resultados de los experimentos de 1960.

#### Retención de las marcas

Las Tablas 5, 6 y 7 contienen datos detallados sobre el desprendimiento de las marcas de los peces en los experimentos de 1958, 1959 y 1960.

La manera más obvia de determinar el volumen del desprendimiento de marcas es la de tabular el número de marcas encontradas cada día en el piso de las secciones de los viveros. Sin embargo, fué difícil encontrarlas allí y, consecuentemente, desde este punto de vista, las cifras son subestimaciones de la tasa de desprendimiento, porque algunas marcas no fueron halladas sino hasta varios días después de que se desprendieron o no fueron encontradas nunca. Por otra parte, indudablemente que algunas de las marcas se desprendieron de los peces después de que éstos habían muerto y comenzado a descomponerse, de manera que desde este punto de vista las cifras son sobreestimaciones de la cantidad de marcas desprendidas. Naturalmente, la intensa mortalidad de los peces poco después de la marcación reduce el número de marcas que podrían ser halladas más tarde en el piso del vivero después de haberse desprendido de los peces vivos. Este fué un problema serio en 1958 y en 1960.

cuando la mayoría de los peces fueron marcados poco tiempo después de su captura.

Otro método para medir el desprendimiento es el de tabular el número de peces que han retenido sus marcas y el número de los que las han perdido después de varios intervalos posteriores a la marcación, tomando en cuenta solamente si tanto los peces que murieron durante esos intervalos como los que vivieron hasta la terminación de los experimentos han retenido o no sus marcas. Estas cifras sólo proporcionan una medida indirecta del desprendimiento de marcas, pero es más exacta que la obtenida usando el número de marcas encontradas en el piso de los viveros. La pérdida de marcas después de la muerte de los peces es aún un problema con este último método, a menos que los peces muy descompuestos que puedan haber perdido sus marcas después de muertos sean eliminados de las tabulaciones. Sólo fué posible eliminar estos peces en los experimentos de 1959 con marcas internas y en los de 1960, ya que en los otros experimentos el asistente de las operaciones solamente registró si los peces muertos retuvieron o no sus marcas y luego los descartó sin registrar si estaban o no en estado de descomposición avanzada que había hecho posible el desprendimiento de las marcas después de la muerte de los peces.

El número de peces marcados que permanecen vivos en cualquier día determinado puede expresarse por medio de la fórmula:

$$e_i = d - f_i \quad (6)$$

en donde

$d$  = número de peces marcados al comenzar el experimento,

$e_i$  = número de peces marcados que quedaban vivos hasta el día "imo" después de la marcación, y

$f_i$  = número de marcas perdidas por mortalidad y desprendimiento hasta el día "imo."

Como se indica en la página 422, es conveniente ajustar los datos a una base común de 200 peces al comienzo de cada experimento. Para este propósito son usadas las siguientes fórmulas:

$$d' = 200 \quad (7)$$

$$e'_t = e_t \frac{d'}{d} \quad (8)$$

$$f'_t = d' - e'_t \quad (9)$$

$$f_t = g_t + h_t \quad (10)$$

$$f_i = g_i + h_i \quad (11)$$

$$e'_i = d' - \frac{f'_t}{f_t} f_i \quad (12)$$

en donde

$d$  = número actual de peces marcados al comenzar el experimento,

- $d'$  = número ajustado de peces marcados al comenzar el experimento,  
 $e_t$  = número actual de peces marcados vivos a la terminación del experimento,  
 $e'_{i_t}$  = número ajustado de peces marcados vivos al día "imo" después de la marcación,  
 $e'_{t_t}$  = número ajustado de peces marcados vivos a la terminación del experimento,  
 $f_i$  = número de marcas registradas como perdidas por mortalidad y desprendimiento al día "imo",  
 $f_t$  = número de marcas registradas como perdidas por mortalidad y desprendimiento a la terminación del experimento,  
 $f'_{t_t}$  = número ajustado de marcas perdidas por mortalidad y desprendimiento a la terminación del experimento,  
 $g_i$  = número de peces registrados como que han muerto con sus marcas al día "imo",  
 $g_t$  = número de peces registrado como que han muerto con sus marcas a la terminación del experimento,  
 $h_i$  = número de marcas registradas como encontradas en el piso del vivero al día "imo", y  
 $h_t$  = número de marcas registradas como encontradas en el piso del vivero a la terminación del experimento.

Continuando con el ejemplo del Experimento 10a,  $d = 99$ ,  $e_t = 1$ ,  $f_t = 97$ ,  $g_t = 2$ ,  $h_t = 95$ , e "imo" puede ser igual a 5, el quinto día posterior a la marcación. Como se habían perdido 32 marcas al quinto día posterior a la marcación,  $f_i = 32$ . Substituyendo los valores correspondientes en las ecuaciones,

$$\begin{aligned}
 d' &= 200 \\
 e'_{t_t} &= 1 - \frac{200}{99} = 2.0 \\
 f'_{t_t} &= 200 - 2.0 = 198.0 \\
 f_t &= 2 + 95 = 97 \\
 f_i &= 1 + 31 = 32 \\
 e'_{i_t} &= 200 - \frac{198.0}{97} 32 = 134.7
 \end{aligned}$$

El número de peces marcados que permanecieron vivos, calculado según se indica arriba, y el número de peces sobrevivientes según los cálculos de la página 423, han sido graficados en las Figuras 1, 2 y 3. Como las dos líneas en cada gráfico representan las pérdidas por mortalidad y las pérdidas por mortalidad y desprendimiento combinadas, el monto de la divergencia entre las dos líneas (en relación con el tiempo según se demuestra en la abscisa) proporciona un índice de la tasa de desprendimiento. Además, el número de peces marcados que permanecieron vivos es de un valor estadístico particularmente valioso porque

simplifica la evaluación de los experimentos al combinar las pérdidas de marcas por mortalidad y por desprendimiento.

#### 1958

Los experimentos en viveros correspondiente al año 1958 se efectuaron principalmente porque se sospechó, después de los pobres resultados de los experimentos de marcación de los años anteriores, que las marcas se habían estado desprendiendo en una forma excesiva. Los experimentos de 1958 han demostrado conclusivamente que ésto fué cierto.

Las Tablas 5 y 24 y la Figura 1 muestran el desprendimiento de las marcas según se ha medido por los tres métodos expuestos anteriormente. La mejor marca por mucho desde el punto de vista de la retención ha sido la de "tallarín" con gaza. Este fué el único tipo de marca retenido por más de 50 días en cualquiera de los peces. La marca de "tallarín" con gallardete ocupó un segundo lugar con bastante diferencia respecto a la primera. Las marcas de cazonete con monofilamento de nylon, que eran similares a las usadas en 1954, 1955, 1956 y 1957, muestran poca retención después de los 30 días. La retención de las marcas de cazonete con nylon trenzado parece haber sido mejor que las de monofilamento de nylon; sin embargo, fué difícil apreciar la calidad de estas marcas sobre la base de los datos de 1958 porque solamente un pez sobrevivió más de 30 días en confinamiento. La marca de "tallarín" con cazonete parece haber sido un poco inferior a la de cazonete con nylon trenzado y, además, es difícil de fabricar. Las marcas hidrostáticas parecen haberse desprendido más o menos en la misma tasa que las de cazonete. Los peces muertos que habían sido marcados con marcas internas no fueron examinados para ver si éstas habían sido retenidas. Sin embargo, es dudoso que haya podido ocurrir un desprendimiento significativo en el corto tiempo transcurrido entre la marcación y la muerte de los peces.

#### 1959

Como la retención de ninguna de las marcas externas empleadas en 1958 fué satisfactoria, los experimentos de 1959 se hicieron con nuevos tipos de marcas y también con variaciones de las antiguas. Las Tablas 6 y 25 y la Figura 2 muestran el desprendimiento de las marcas externas medido por los tres métodos expuestos anteriormente. La eficacia relativa de las diversas marcas en relación con el desprendimiento fué en el siguiente orden: marcas de grapa, de cazonete, de dardo, de Atkins, hidrostática y en el opérculo. La primera fué el único tipo de marca retenida más de 50 días en cualquiera de los peces, y fué aproximadamente igual a la marca de gaza con "tallarín" empleada en 1958. Los resultados con las marcas de cazonete y de nylon trenzado fueron bastante similares a los que se obtuvieron el año anterior con las de cazonete y monofilamento de nylon.

Los datos sobre la retención de las marcas internas se dan en las Tablas 6 y 26 y en la Figura 3. Al principio no había manera de recobrar

las marcas que se habían desprendido excepto cuando se veían en el piso de los viveros y podían sacarse con un carcal, procedimiento que es obviamente ineficiente. El 29 de junio, el Sr. Delgado entró en la Sección 5 y por medio del tacto encontró y logró sacar 69 marcas. El 20 de julio se le proporcionaron imanes que arrastró a lo largo del piso para recobrar las marcas que se habían desprendido. Que estos imanes fueron un medio efectivo de recuperar las marcas está demostrado en la Tabla 26, en la que se ve que 166, 190, 187 y 185 marcas, correspondientes a los Experimentos 5f, 8b, 9c y 10c, respectivamente, fueron tenidas en cuenta.

El recobro de las marcas en el piso de los viveros (Tabla 26) no es un método muy satisfactorio para estimar la tasa de desprendimiento por las razones expuestas al principio de este capítulo. Descartando el Experimento 8b, que fué el único en el que ocurrió una intensa mortalidad poco después de la marcación, la enumeración de las marcas encontradas en el piso de los viveros indica que la tasa más alta de desprendimiento se registró en el Experimento 5f, seguida por los Experimentos 10c y 9c en este orden. También parece ser que la mayor parte de los desprendimientos se efectuó durante el primer mes después de la marcación.

La tasa de desprendimiento puede ser determinada indirectamente, pero con mayor exactitud, mediante el examen de los peces muertos y vivos para ver si han retenido sus marcas. De acuerdo con ésto, a partir de julio todos los peces muertos sacados de las secciones con marcas internas se conservaron en frascos separados. A intervalos irregulares, con un promedio de tres veces por mes, como se muestra en la Tabla 26, los peces muertos se sacaban de los frascos y se examinaban con el objeto de ver si habían mantenido sus marcas. La categoría "Desconocido" en la tabla consiste casi en su totalidad de peces cuyos abdómenes estaban podridos cuando fueron sacados de las secciones del vivero, por cuyo motivo no fué posible determinar si estaban o no marcados cuando murieron. También figuran en la columna "Desconocido" tres peces vivos que se escaparon el 22 de diciembre cuando se les sacaba de los viveros. Las cifras de la Tabla 26 difieren ligeramente de las de la Tabla 2 debido a errores cometidos en el lugar de los experimentos.

El hecho de que, en cada sección, la razón de los peces marcados con respecto a los no marcados en cada experimento se mantuvo constante entre los peces que habían vivido por lo menos 1 mes después de la marcación, evidencia que la mayor parte del desprendimiento se efectuó 1 mes después de la marcación. De acuerdo con ésto, sólo se usaron aquellos peces para indicar el monto total de los desprendimientos. Los datos aparecen en la Tabla 27. Estos resultados confirman las conclusiones con respecto a las tasas relativas de desprendimiento de marcas ocurrido en los diversos experimentos, según han sido determinadas por el número de marcas encontradas en el piso de las secciones.

Una tercera indicación de la tasa de desprendimiento la da la Figura 3, que concuerda con las Figuras 1 y 2 para las marcas externas. La

divergencia entre las líneas que muestran la supervivencia y las líneas que muestran los peces marcados que quedaron vivos es una medida del monto del desprendimiento de marcas. En fuerte contraste con los experimentos con marcas externas, puede notarse que la divergencia ocurrió casi por completo durante el primer mes después de la marcación. Después del primer mes las líneas se mantienen casi paralelas, debido a que casi no hubo más desprendimientos. Cuando las líneas convergen es debido a la muerte de una parte demasiado grande de los peces no marcados, quedando un porcentaje mayor de peces marcados entre los vivos. La divergencia se debe a lo contrario o al desprendimiento de marcas. Estos resultados confirman nuevamente las conclusiones con respecto a las tasas relativas de desprendimiento que ocurrieron en las diversas pruebas, determinadas por el número de marcas encontradas en el piso de las secciones y por las proporciones relativas de peces marcados y no marcados entre los muertos. Es particularmente digno de anotarse que los peces del Experimento 9c, marcados anteriormente, retuvieron mejor sus marcas que los del Experimento 10c, marcados posteriormente; además, la tasa de supervivencia del primer grupo fué más alta, y es más fácil colocar las marcas anterior que posteriormente.

La Tabla 28 da el número de peces marcados que quedaron vivos en cada uno de los experimentos con marcas internas después de ciertos intervalos de tiempo seleccionados. Estas son cifras ajustadas, computadas por las fórmulas dadas al comienzo de este capítulo, y son iguales a las usadas en la Figura 3. Esta tabla proporciona lo que es quizás una indicación del número relativo de recobros que puede esperarse de las liberaciones de peces marcados en diferentes épocas del año, siempre que la pesquería tome una porción constante de la población.

Al examinar esta tabla parece que el Experimento 5f fué el de mayor éxito, porque tiene el mayor número de peces marcados que quedaron vivos después de cada intervalo de tiempo seleccionado (con una excepción de menor importancia). Sin embargo, ésto no obedece a que las marcas se desprendieron menos que en los otros experimentos, ya que se demostró lo contrario en el caso de la Tabla 27. El Experimento 5f fué el de mayor éxito porque en él se registró la mejor supervivencia y ésto se debió principalmente a la época del año en que los peces fueron marcados. Si la técnica de insertar las marcas anteriormente que se empleó en el Experimento 9c hubiese sido empleada en el Experimento 5f, tal vez las tasas de mortalidad y desprendimiento hubieran sido aún más bajas y el número de peces marcados que quedaron vivos habría sido aún más alto.

Puede ser una regla general que conforme la estación progresá el desprendimiento es menor pero la mortalidad es más alta (Tablas 27 y 28). El resultado neto, si éste es el caso, es una pérdida mayor de peces marcados cuando ha avanzado la estación porque el aumento en la retención de las marcas no es suficiente para compensar la mortalidad más intensa de los peces marcados.

No fué factible hacer numerosas observaciones en los peces marcados con colorantes de anilina para observar la tasa de descoloramiento, y aún cuando hubieran podido hacerse no se disponía de un índice objetivo apropiado. Los resultados concuerdan bastante bien con los obtenidos por Dunn y Coker (1951), Al-Hamid (1954), Dunstan y Bostick (1956) y Costello (1959) en cuanto al desvanecimiento relativo de los diversos colorantes. Cuando se examinó a los peces vivos, el mejor colorante desde el punto de vista de su retención pareció ser el azul tripano, seguido por el verde sólido FCF y por el rojo tripano, en este orden. Cuando se terminaron los experimentos, ninguno de los peces marcados con azul tripano estaba vivo, pero casi todos los sobrevivientes marcados con los otros dos colorantes conservaban todavía rastros bien visibles de las marcas. En los peces frescos, el verde sólido FCF fué algo más conspicuo que el rojo tripano. Cuando se preservaron los peces en formalina, las marcas del rojo tripano habían virtualmente desaparecido mientras que las del verde sólido FCF parecían algo más intensificadas. Ambos lotes de peces estuvieron en los viveros por más de 5 meses.

Las marcas con pigmentos inertes fueron visibles más o menos durante 1 semana, y prácticamente todas habían desaparecido después de 2 semanas. Estos resultados son contrarios a los de otros investigadores, y probablemente pueden ser atribuídos a diferencias físicas y/o fisiológicas en las especies de peces que sirvieron para los experimentos.

Las marcas con las dos fluoresceínas insolubles, "Rhodamine 6 GDN extra" y "Brilliant acid yellow 8G", desaparecieron más o menos a la misma tasa que la de los pigmentos inertes. Las marcas con "Thiazine red R" se habían descolorado muchísimo apenas 11 días después de aplicadas y desaparecieron completamente en 3 semanas.

#### 1960

El procedimiento para registrar los datos del experimento con marcas externas en 1960 fué modificado con respecto al de los años anteriores. En vez de que el asistente registrara diariamente si los peces muertos tenían sus marcas o no, se les preservaba para un examen posterior, como se hizo en el caso de las marcas internas. La Tabla 29 es equivalente a las Tablas 24 y 25 correspondientes a 1958 y 1959, respectivamente, con la excepción de que el procedimiento empleado en 1960 requiere el uso de diferentes intervalos de tiempo. El número total de peces muertos que se da en esta tabla difiere de la cifra dada en la Tabla 3 porque el número de peces preservados en el frasco era menor que el número registrado en el libro de notas como peces que habían muerto, y porque algunos de los peces en el frasco estaban en tal estado de descomposición que no fué posible decir si habían perdido sus marcas antes o después de su muerte. Los resultados son de lo más peculiares en que a pesar de que 68 de los 73 peces que murieron antes de que el experimento terminara habían retido sus marcas, solamente 2 de los 25 que vivieron hasta el fin del experimento estaban marcados. La razón de ésto aparentemente es que las marcas tendieron a matar los peces, no inme-

diatamente, pero si después de varias semanas. Los peces que lograban desprenderse de sus marcas tenían en consecuencia una oportunidad mucho mayor de sobrevivir.

La Tabla 30 da los datos correspondientes a 1960 equivalentes a los datos en la Tabla 26 para el año 1959. Todos los experimentos concurrentes efectuados con antibióticos y todos los realizados sin antibióticos (excepto, por supuesto, aquellos en que los peces no estaban marcados) han sido combinados en esta tabla. Esto se ha hecho con el propósito de reducir el número de las comparaciones que deben hacerse y de aumentar la significación de las mismas al tener mayor número de peces en los grupos que se comparan. No hay razón conocida de por qué los diferentes anestésicos afectarían el desprendimiento de las marcas, ni hay datos que proporcionen evidencia de que así fuera, de modo que el procedimiento empleado parece justificado. Igual que en 1959, el número de marcas encontradas en el piso de las secciones es una pobre indicación del desprendimiento de marcas. La Tabla 30, como la Tabla 26, indica que la mayor parte del desprendimiento de marcas ocurrió durante el primer mes después de la marcación. En consecuencia, solamente los peces que vivieron por lo menos 1 mes después de la marcación son usados para indicar el monto total del desprendimiento que tuvo lugar.

Los datos mostrados en la Tabla 31 parecen indicar que el uso de antibióticos reduce la tasa de desprendimiento aproximadamente en un 25 por ciento. Para probar ésto estadísticamente, los experimentos con cada uno de los cuatro grupos que aparecen en la tabla fueron analizados por la prueba de contingencia de Ji-cuadrado. Los resultados demostraron que al nivel del 5 por ciento de probabilidad, cada uno de los dos grupos de experimentos comenzados en mayo 27-29 fué homogéneo dentro de sí mismo. La comparación de los dos grupos de datos combinados arrojó un valor de Ji-cuadrado de 2.31 con 1 grado de libertad. Esto no es significativo al nivel del 5 por ciento, de modo que no se rechaza la hipótesis de que los antibióticos no reducen la tasa de desprendimiento. Las pruebas de contingencia de Ji-cuadrado demostraron que al nivel del 5 por ciento ninguno de los dos grupos de experimentos del 30 de junio fué homogéneo dentro de sí mismo, de modo que los datos combinados no podían ser comparados. La evidencia estadística no es entonces suficiente para demostrar si el empleo de antibióticos disminuye o no la tasa del desprendimiento de marcas.

Lo mismo que la Tabla 27, la Tabla 31 indica que la tasa de desprendimiento disminuye conforme la estación avanza.

Las marcas para los peces que debían recibir tratamiento antibiótico fueron sumergidas en alcohol etílico al 70 por ciento antes de ser usadas en los experimentos del 30 de junio, pero no las que se usaron en mayo 27-29. Los resultados de estos experimentos, en comparación con sus respectivos experimentos de control, son muy similares (Tabla 31), de modo que no hay evidencia de que el alcohol contribuyera a la reducción del desprendimiento de marcas en los experimentos del 30 de junio.

**LITERATURE CITED — BIBLIOGRAFIA**

Al-Hamid, Mahmoud Ibrahim

- 1954 The use of dyes for marking fish.  
Prog. Fish Cult., Vol. 16, No. 1, pp. 25-29.

Anonymous

- 1876 Atlantic salmon.  
Rep. U. S. Comm. Fish., Part 3, pp. xxx-xxxii.
- 1952 Marking cutthroat trout with trypan blue dye.  
Prog. Fish Cult., Vol. 14, No. 1, p. 9.
- 1953 A guide to fish marks used by members of the International Council for the Exploration of the Sea and some non-participant countries, Second edition.  
Jour. Cons. Int. Explor. Mer, Vol. 19, No. 2, pp. 241-289.
- 1959 Shrimp tagging.  
Comm. Fish. Rev., Vol. 21, No. 3, pp. 38-39.
- n. d. M. S. 222 Sandoz, the anesthetic of choice in work with cold-blooded animals.  
Hanover, N. J., Sandoz, Inc., 8 pp.

Black, Edgar C.

- 1958 Hyperactivity as a lethal factor in fish.  
Jour. Fish. Res. Bd. Can., Vol. 15, No. 4, pp. 573-586.

Carranza, J.

- 1953 Métodos para marcar peces de pequeño tamaño, de utilidad en estudio de poblaciones.  
Anal. Escuela Nac. Cien. Biol., Vol. 7, No. 1-4, pp. 111-128.

Chapman, Donald W.

- 1957a Use of latex injections to mark juvenile steelhead.  
Prog. Fish Cult., Vol. 19, No. 2, pp. 95-96.
- 1957b An improved portable tattooing device.  
Prog. Fish Cult., Vol. 19, No. 4, pp. 182-184.

Clemens, Howard P. and Kermit E. Sneed

- 1959 Tattooing as a method of marking channel catfish.  
Prog. Fish Cult., Vol. 21, No. 1, p. 29.

Costello, Thomas J.

- 1959 Marking shrimp with biological stains.  
Proc. Gulf Carib. Fish. Inst., Vol. 11, pp. 1-6.

Davis, Claude S.

- 1955 The injection of latex solution as a fish marking technique.  
Inves. Indiana Lakes Streams, Vol. 4, pp. 111-116.

Dawson, C. E.

- 1957 Studies on the marking of commercial shrimp with biological stains.  
Spec. Sci. Rep.: Fish. U. S. Fish Wildlife Ser., No. 231, 24 pp.

van Duijn, C., Jr.

- 1955 Diseases of fishes and their care.  
pp. 123-153. In Axelrod, Herbert R. and Leonard P. Schultz,  
Handbook of Tropical Aquarium Fishes, New York, McGraw  
Hill Book Company, Inc., xxi, 718 pp.

Dunn, Arnold and Coit M. Coker

- 1951 Notes on marking live fish with biological stains.  
Copeia, No. 1, pp. 28-31.

Dunstan, William A. and Wallace E. Bostick

- 1956 New tattooing devices for marking juvenile salmon.  
Fish. Res. Pap. Wash. Dept. Fish., Vol. 1, No. 4, pp. 70-79.

Feder, Howard M.

- 1955 The use of vital stains in marking Pacific coast starfish.  
Calif. Fish Game, Vol. 41, No. 3, pp. 245-246.

Fridriksson, Arni and Olav Aasen

- 1950 The Norwegian-Icelandic herring tagging experiments, Report  
No. 1.  
Rep. Norweg. Fish. Mar. Inves., Vol. 9, No. 11, 43 pp.

Gandolfi-Hornyold, A.

- 1929a Une nouvelle méthode pour marquer des anguilles: le tatouage.  
Bull. Soc. Aquic. Peche, Paris, Vol. 36, pp. 53-54.
- 1929b La possibilité de marquer les anguilles par le tatouage.  
Bull. Soc. Phylomath., Paris., Vol. 18, No. 1, pp. 25-26.

Gerking, Shelby D.

- 1953 Evidence for the concepts of home range and territory in stream fishes.  
Ecology, Vol. 34, No. 2, pp. 347-365.
- 1958 The survival of fin-clipped and latex-injected redear sunfish.  
Trans. Amer. Fish. Soc., Vol. 87, pp. 220-228.

Hickling, C. F.

- 1945 Marking fish with the electric tattooing needle.  
Jour. Mar. Biol. Assoc. U. K., Vol. 26, No. 2, pp. 166-169.

Hourston, Alan S.

- 1959 The relationship of the juvenile herring stocks in Barkley Sound to the major adult populations in British Columbia.  
Jour. Fish. Res. Bd. Can., Vol. 16, No. 3, pp. 309-320.

Howard, Gerald V. and Antonio Landa

- 1958 A study of the age, growth, sexual maturity, and spawning of the anchoveta (*Cetengraulis mysticetus*) in the Gulf of Panama.  
Bull. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Vol. 2, No. 9, pp. 389-437 (English), 438-467 (Spanish).

Irwin, W. H.

- 1959 Terramycin as a control for fin rot in fishes.  
Prog. Fish Cult., Vol. 21, No. 2, pp. 89-90.

Jackson, C. F.

- 1959 A technique for mass-marking fish by means of compressed air.  
Tech. Circ. New Hamp. Fish Game Dept., No. 17, 8 pp.

Janssen, John F., and J. Alfred Aplin

- 1945 The effect of internal tags upon sardines.  
Bull. Calif. Div. Fish Game, No. 61, pp. 43-62.

Kask, John Laurence

- 1936 The experimental marking of halibut.  
Science, N. S., Vol. 83, No. 2158, pp. 435-436.

Letaconnoux, R.

- 1951 Une expérience de marquage sur la sardine du Golfe de Gascogne.  
Jour. Cons. Int. Explor. Mer, Vol. 17, No. 3, pp. 264-266.

Loukashkin, Anatole S. and Thomas C. Groody

- 1955 On the Pacific sardine (*Sardinops caerulea* Girard) in aquaria: transportation, handling, maintenance, and survival.  
Proc. Calif. Acad. Sci., Ser. 4, Vol. 28, No. 7, pp. 339-353.

McFarland, William N.

- 1959 A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes.  
Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas, Vol. 6, pp. 23-55.
- 1960 The use of anesthetics for the handling and the transport of fishes.  
Calif. Fish Game, Vol. 46, No. 4, pp. 407-431.

McKenzie, R. A.

- 1950 A new celluloid opercular tag.  
Trans. Amer. Fish. Soc., Vol. 78, pp. 114-116.

McKenzie, R. A. and B. E. Skud

- 1958 Herring migrations in the Passamaquoddy region.  
Jour. Fish. Res. Bd. Can., Vol. 15, No. 6, pp. 1329-1343.

Muench, Bruce

- 1958 Quinaldine, a new anesthetic for fish.  
Prog. Fish Cult., Vol. 20, No. 1, pp. 42-44.

Norris, Kenneth S., Frank Brocato, Frank Calandrino, and William N. McFarland.

- 1950 A survey of fish transportation methods and equipment.  
Calif. Fish Game, Vol. 46, No. 1, pp. 5-33.

Oppenheimer, Carl H.

- 1955 The effect of marine bacteria on the development and hatching of pelagic fish eggs, and the control of such bacteria by antibiotics.  
Copeia, No. 1, pp. 43-49.

Rounsefell, George A. and Edwin H. Dahlgren

- 1933 Tagging experiments on the Pacific herring, *Clupea pallasii*.  
Jour. Cons. Int. Explor. Mer, Vol. 8, No. 3, pp. 371-384.

Rounsefell, George A. and John Lawrence Kask

1945 How to mark fish.

Trans. Amer. Fish. Soc., Vol. 73, pp. 320-363.

Schaefer, Milner B.

1953 Report on the investigations of the Inter-American Tropical Tuna Commission during the year 1952.

Ann. Rep. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., 1952, pp. 14-35 (English), 36-61 (Spanish).

1954 Report on the investigations of the Inter-American Tropical Tuna Commission for the year 1953.

Ann. Rep. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., 1953, pp. 18-50 (English), 51-87 (Spanish).

1955 Report on the investigations of the Inter-American Tropical Tuna Commission for the year 1954.

Ann. Rep. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., 1954, pp. 24-59 (English), 60-100 (Spanish).

1958 Report on the investigations of the Inter-American Tropical Tuna Commission for the year 1957.

Ann. Rep. Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., 1957, pp. 31-79 (English), 80-134 (Spanish).

Sette, Oscar Elton

1950 Biology of the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) of North America. Part II. Migrations and habits.

Fish. Bull. U. S. Fish Wildlife Ser., Vol. 51, No. 49, pp. 251-358.

Sneed, Kermit E. and Howard P. Clemens

1960 Use of fish pituitaries to induce spawning in channel catfish. Spec. Sci. Rep.: Fish. U. S. Fish Wildlife Ser., No. 329, 12 pp.

Suehiro, Yasuo

1933 A study of the causes of death of bait fishes.

Jour. Imp. Fish. Exper. Sta., Vol. 7, No. 52-60, pp. 51-90 (translation by W. G. Van Campen in Spec. Sci. Rep.: Fish. U. S. Fish Wildlife Ser., No. 62, 57 pp.)

Wigley, Roland L.

1952 A method of marking larval lampreys.

Copeia, No. 3, pp. 203-204.

Wilimovsky, Norman J.

1959 Personal communication, November 12, 1959.

Wilson, Robert C.

1953 Tuna marking, a progress report.

Calif. Fish Game, Vol. 39, No. 4, pp. 429-442.

Wood, H., B. B. Parrish, and G. McPherson

1955 Review of Scottish herring tagging experiments, 1948-1953.

Rapp. Proc.-Verb. Int. Explor. Mer, Vol. 140, Part 2, pp. 35-54.

Yamashita, Daniel T. and Kenneth D. Waldron

1958 An all-plastic dart-type fish tag.

Calif. Fish Game, Vol. 44, No. 4, pp. 311-317.