

Determinación de edad en el delfín chileno *Cephalorhynchus eutropia* (Cetacea: Delphinidae)

Age determination in the Chilean dolphin *Cephalorhynchus eutropia* (Cetacea: Delphinidae)

DANIZA M. MOLINA y JULIO C. REYES

Casilla 392, Talcahuano, Chile

RESUMEN

Se utilizaron tres técnicas de microscopía (luz transmitida, luz polarizada y electrónica de barrido) para estudiar el patrón de depositación de los grupos de capas de crecimiento (GCC) en dientes del delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia*, para estimaciones de edad. El material analizado incluye dientes de 36 delfines. No hubo diferencias significativas en el tiempo de descalcificación de los dientes entre machos y hembras. El patrón de depositación de los GCC observado es similar al descrito para otras especies de delfínidos. El número de GCC estimados varió de 1,0 a 19,0. En las secciones analizadas con luz polarizada se identificó la presencia de capas incrementales en la predentina, tres pares de bandas en la línea neonatal y de 12 a 13 capas incrementales en cada GCC. En todas las técnicas fue difícil definir los GCC en el cemento, debido a que sus límites aparecen difusos.

Palabras clave: delfín chileno, historia de vida, metodologías, Chile.

ABSTRACT

Three techniques (transmitted light, polarizing light and scanning electron microscopy) were used to describe and study the pattern of growth layer groups (GLGs) in the teeth of Chilean dolphin, *Cephalorhynchus eutropia*. Samples included teeth from 36 dolphins. No significant sexual differences were found in the decalcification time. The GLG pattern was similar to the pattern described for other delphinids. The number of estimated GLGs in the sample ranged from 1.0 to 19.0. Polarizing light revealed incremental layers in the predentine, three pairs of bands in the neonatal line, and 12-13 incremental layers within each GLG. Cemental GLGs were difficult to observe by the three techniques, because their limits were diffuse.

Key words: Chilean dolphin, life history, research methods, Chile.

INTRODUCCION

El progresivo interés por el estudio de los mamíferos marinos ha evolucionado desde la mera recolección de datos a la interpretación basada en parámetros del ciclo vital. Dentro de éstos, la edad es una de las herramientas más importantes, y es uno de los primeros puntos a ser considerados cuando se estudia la situación de una especie o grupo de especies. Si bien las estructuras de crecimiento dental en mamíferos marinos fueron descritas durante el siglo pasado, no fue hasta mediados del presente siglo que estas estructuras recibieron atención de los investigadores (Scheffer & Myrick 1980). Desde entonces, el estudio de la estructura de edades ha sido

de gran ayuda para establecer los efectos de actividades humanas sobre poblaciones de mamíferos marinos. Cabe aquí citar los estudios sobre delfines del género *Stenella* en el Pacífico oriental tropical (Perrin et al. 1977, Chivers & Myrick 1991), la marsopa común (*Phocoena phocoena*) en aguas de Canadá (Read, 1990) y el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) en aguas de Norteamérica (Hohn 1980, Hohn et al. 1989). Sin embargo quedan aún muchas especies o poblaciones de especies por estudiar.

El género *Cephalorhynchus* es uno de los más diversos de la familia Delphinidae y el de mayor distribución en las costas del hemisferio sur (Brownell & Donovan 1988). Está constituido por cuatro especies: tonina

overa, *C. commersonii* (Lacépede 1804), delfín de Heaviside, *C. heavisidii* (Gray 1828), delfín de Héctor *C. hectori* (Van Beneden 1881) y delfín chileno, *C. eutropia* (Gray 1846). Este género es uno de los menos estudiados, debido principalmente a la carencia de ejemplares y al reducido número de investigadores realizando estudios dentro de su área de distribución (Brownell & Donovan 1988). Los hábitos costeros, distribución restringida y endemismo hacen a estos delfines vulnerables a una serie de presiones como resultado de actividades humanas, incluyendo captura directa y/o accidental y degradación de su hábitat (Leatherwood & Reeves 1983, Brownell & Donovan 1988).

El delfín chileno *Cephalorhynchus eutropia* es una especie endémica distribuida desde Valparaíso, 33°S, hasta el Cabo de Hornos, 55°14'S (Aguayo 1975, Goodall et al. 1988). Poco se sabe sobre la historia de vida, ecología y abundancia de este delfín, considerado como uno de los cetáceos menos estudiados (Reeves & Leatherwood 1994). Este delfín está involucrado en interacciones con las pesquerías, principalmente en la zona sur, desconociéndose la magnitud de estas capturas (Goodall et al. 1988, Goodall 1994, Oporto & Brieva 1990). En el presente trabajo se proporciona información sobre estimación de edad en dientes del delfín chileno y se describe el patrón de depositación de los grupos de capas de crecimiento (GCC) utilizando técnicas de microscopía óptica y electrónica. Existen evidencias que el patrón de depositación de los GCC varía entre las familias Delphinidae, Pontoporidae y Monodontidae (Goren et al. 1987, Hohn et al. 1989, Pinedo 1991). Al estudiar los dientes del delfín chileno se pretende corroborar la hipótesis de que el patrón de depositación de dentina no se aparta del modelo de la familia Delphinidae.

MATERIALES Y METODOS

El material incluye dientes de 36 delfines chilenos capturados accidentalmente por pescadores artesanales de la localidad de Queule (39°22'S, 73°13'W) entre los años 1987 y 1991 (Tabla 1). De cada ejemplar se extrajo entre cuatro a seis dientes del centro de la

rama mandibular izquierda. Cada diente fue examinado externamente, medido, rotulado y preservado en alcohol al 70%. Para el estudio del patrón de los GCC se utilizaron tres técnicas de microscopías:

Luz transmitida

Un total de 180 dientes fueron sometidos a esta técnica. La metodología empleada es descrita por Molina & Oporto (1993). Básicamente consiste en la descalcificación de los dientes en una mezcla de ácidos conocida comercialmente como RDO (Apex Engineering Products Corporation) y la obtención de secciones longitudinales de 20 micras de espesor usando un micrótopo de congelación. Las secciones fueron teñidas con Hematoxilina de Harris y examinadas con un microscopio de disección Wild M-8 con aumento de 50X. En cada sección se midió el ancho de la predentina (medida entre el borde externo del diente y la línea neonatal) y de cada GCC. Para estas medidas, así como la identificación del patrón de depositación de dentina, se utilizó el protocolo descrito por Hohn et al. (1989), considerándose un GCC formado por una capa oscura seguida de una capa clara, como un grupo de depositación anual de dentina.

Luz polarizada

Se utilizaron dos dientes de tres animales. De cada ejemplar, un diente fue desgastado transversalmente y otro longitudinalmente hasta un espesor aproximado de 100 micras. Los dientes fueron adheridos a un bloque de masilla epóxica y desgastados por ambos lados con un esmeril. El desgaste de las secciones longitudinales se realizó siguiendo el eje linguo-bucal hasta aproximadamente la mitad del diente. Para las secciones transversales el desgaste se realizó en forma circular. El pulido se realizó con una lija al agua de grano 360, 400 y 500. Las secciones obtenidas fueron lavadas en un flujo de agua y permanecieron en agua destilada por varios días, para luego ser deshidratadas en una batería de alcoholes y montadas en Bálsamo del Canadá. Las secciones fueron analizadas en un fotomicroscopio Zeiss equipado con un polarizador rotatorio.

TABLA I

Datos generales sobre determinación de edad en ejemplares de delfín chileno,
Cephalorhynchus eutropia, capturados en la pesquería en el sur de Chile

General data on age determination of Chilean dolphins, *Cephalorhynchus eutropia*, taken in fisheries in southern Chile

NUMERO	FECHA	SEXO	LONGITUD (cm)	DESCALCI- FICACION (hrs.)	Nº DE GCC
JAO 012	27FEB85	M	136,0	3,0	3,0
JAO 020	31DIC85	M	140,0	4,5	4,5
JAO 021	06MAR85	M	157,0	18,0	13,5
JAO 034	20JUN87	H	147,5	5,5	6,0
JAO 035	20JUN87	M	147,5	8,5	4,5
JAO 037	20JUN87	M	143,0	7,0	5,0
JAO 038	20JUN87	M	152,0	8,5	11,0
JAO 039	20JUN87	M	151,0	9,0	6,0
JAO 040	20JUN87	H	142,0	5,0	5,5
JAO 044	02FEB89	M	147,0	6,5	5,0
JAO 045	03FEB89	M	157,0	6,5	6,5
JAO 067	27DIC89	H	157,5	16,0	9,5
JAO 068	27DIC89	M	131,0	2,0	1,5
JAO 071	18ENE90	M	152,5	7,0	10,0
JAO 078	19ENE90	H	144,5	3,0	1,5
JAO 079	19ENE90	M	128,0	3,0	1,5
JAO 081	25ENE90	M	150,0	7,0	10,5
JAO 082	25ENE90	M	161,0	8,0	11,0
JAO 083	25ENE90	M	158,0	11,0	13,0
JAO 084	12JUN90	M	147,0	6,5	4,0
JAO 085	12JUN90	H	146,0	11,0	2,5
JAO 086	12JUN90	M	152,5	3,5	3,0
JAO 088	12JUN90	H	142,5	4,0	1,5
JAO 089	12JUN90	M	146,0	3,0	4,5
JAO 090	12JUN90	M	132,2	2,5	1,5
JAO 091	12JUN90	H	151,0	17,0	13,0
JAO 094	18NOV90	H	145,0	8,5	6,5
JAO 095	18NOV90	H	157,5	20,5	11,5
JAO 097	22NOV90	H	141,0	3,0	2,0
JAO 102	07DIC90	M	131,0	5,0	1,0
JAO 103	07DIC90	M	166,0	20,5	19,0
JAO 104	07DIC90	M	137,0	4,0	2,0
JAO 109	19DIC90	H	126,0	5,0	1,0
JAO 110	10ENE91	H	135,5	4,0	1,5
JAO 115	20DIC90	H	157,5	23,0	10,5
JAO 120	10ENE91	H	135,5	3,5	1,5

Electrónica de barrido

Se estudiaron dos dientes de dos animales. Un diente fue desgastado en su eje longitudinal hasta obtener una lámina central de un espesor aproximado de 250 micras y el

otro fue desgastado transversalmente por ambos extremos hasta obtener una lámina central de un espesor aproximado de 500 micras. El desgaste se realizó con un esmeril y luego se procedió a pulir con lija al agua de grano 360, 400 y 500. Las secciones fueron trata-

das con ácido fórmico al 5% durante 1 hora, lavadas con agua, y deshidratadas en una batería de alcoholes; finalmente fueron secadas en una estufa durante una hora a 37°C, montadas en un portaespecimen y posteriormente sombreadas con oro, para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido. El análisis de las secciones se realizó en un microscopio electrónico de barrido Nanolab 2000. Las secciones fueron analizadas en un ángulo de 45° a 25 kv.

Debido a que permitió el procesamiento de todas las muestras en un tiempo reducido, además de su bajo costo, la técnica de microscopía de luz transmitida fue aplicada a toda la muestra. Las otras dos técnicas se emplearon para estudiar la ultraestructura del diente. La prueba de Student fue aplicada para saber si existen diferencias en los tiempos de descalcificación de los dientes entre machos y hembras que revelaran posibles diferencias en la tasa de depositación de material en la dentina.

RESULTADOS

El número de GCC estimados en la dentina varió entre 1,0 y 19,0, valores que corresponden a animales con tallas de 126-131 y 166 centímetros, respectivamente (Tabla 1).

Tiempo de descalcificación

Los tiempos de descalcificación con RDO variaron de acuerdo a la longitud corporal: en animales de 120-140, 140-150 (cm) el tiempo de descalcificación fluctuó entre 2-5, 3-11 horas, respectivamente; mientras que individuos con un tamaño corporal mayor a 150 cm presentaron rangos de descalcificación de 8-23 horas. La curva entre la longitud corporal (X) y el tiempo de descalcificación (Y) (Fig. 1) está representada por la ecuación: $Y = e^{-5,44039+0,0498602X}$. A pesar de que las hembras presentaron un rango de descalcificación ligeramente mayor a longitudes mayores de 150 cm, la aplicación de la prueba de Student no demostró diferencias significativas entre ambos sexos ($t = 0,479312$, $gl = 34$, $p < 0,005$).

Descripción de los GCC

Microscopía de luz transmitida

La dentina prenatal se observó como un área de estructura homogénea y opaca sin la presencia de bandas de crecimiento anual a diferencia de la dentina postnatal. La línea

TABLA 2

Comparación del ancho medio de cada GCC (en micras, por sexo, hasta el sexto GCC) medido en secciones descalcificadas y teñidas de dientes del delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia*
Comparison of mean GLG width (in μ m by sex, up to the sixth GLG), measured in decalcified and stained tooth sections from Chilean dolphins, *Cephalorhynchus eutropia*

N° de GCC	HEMBRAS				MACHOS			
	N	Media	DS	Rango	N	Media	DS	Rango
1	12	392	5,7	392-451	22	412	10,6	294-492
2	8	280	16,8	245-372	18	314	13,0	216-382
3	6	211	15,1	196-294	16	235	5,8	206-284
4	6	152	4,0	137-157	14	181	4,6	147-216
5	5	118	3,5	108-127	10	162	8,1	118-186
6	3	108	3,3	108-118	8	137	6,9	108-167

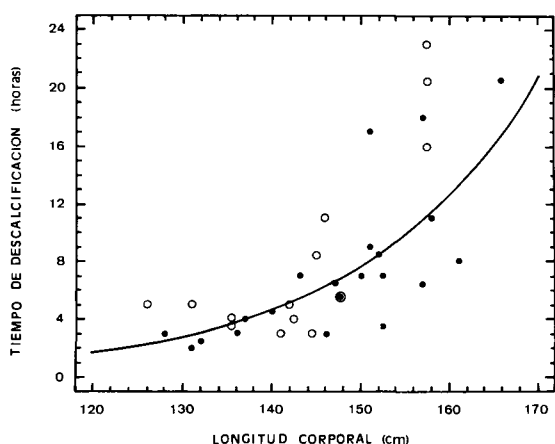


Fig. 1: Relación entre la longitud corporal (X, en cm) y el tiempo de descalcificación (Y, en horas) de dientes de delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia*. La curva está expresada por la ecuación: $Y = -5,44039e+0,0498602X$ (N=36, r=0,76). Los símbolos representan machos (●) y hembras (○).

Relationship between body length (X, in cm) and decalcification time (Y, in hours) of teeth from Chilean dolphins, *Cephalorhynchus eutropia*. The equation corresponding to the curve is: $Y = -5.44039e+0.0498602X$ (N=36, r=0,76). Symbols represent males (●) and females (○).

neonatal (LNN) aparece como una banda translúcida, delgada y bien definida, seguida por una delgada banda opaca (Fig. 2A). En la dentina postnatal el primer GCC está formado por una banda opaca con bandas accesorias y una delgada banda translúcida, a menudo menos aparente que algunas bandas accesorias. El segundo GCC es más delgado que el primero y las bandas opaca y translúcida son más nítidas. A pesar de la presencia de bandas accesorias, el límite entre el segundo y tercer GCC es con frecuencia más intenso en coloración y por ello más fácil de identificar. A partir del tercer GCC las bandas opacas y translúcidas se hacen más visibles y las bandas accesorias son menos prominentes (Fig. 2A-B).

El ancho medio de la predentina en machos y hembras fue de 412 micras. El ancho de los GCC para machos y hembras se muestra en la Tabla 2. La disminución de los GCC es gradual; hasta el cuarto GCC el ancho es de aproximadamente 75% del que le precede. A partir del quinto, cada GCC equivale aproximadamente a un 90% del que le precede (Fig. 2B).

La identificación de los GCC en el cemento fue difícil, debido a que los GCC encontrados aquí son más delgados que en la dentina y en la mayoría de las preparaciones sus límites fueron difusos.

Microscopía de luz polarizada

Se observaron capas incrementales en la dentina prenatal, aunque la diferenciación de estas capas fue sólo posible en el borde de la línea neonatal. La línea neonatal es translúcida y brillante. Al utilizar mayores aumentos, la LNN está compuesta por tres pares de bandas opacas y translúcidas. En la dentina postnatal se observa que los GCC están formados por 12 a 13 capas incrementales, lo cual fue verificado hasta el cuarto GCC (Fig. 2C). La excepción fue un ejemplar en el cual sólo se contaron 10 capas incrementales en el segundo GCC. A partir del quinto GCC la identificación de las capas incrementales fue difícil debido a la carencia de contraste entre las bandas, que además estaban compactadas.

El número de GCC observados en la dentina fue similar tanto en las secciones longitudinales como en las transversales; sin embargo, la identificación de las capas incrementales fue más fácil en los cortes transversales. La identificación de los GCC en el cemento no fue posible, observándose sólo los cementocitos dispersos difusamente a través de toda la superficie.

Microscopía electrónica de barrido

El relieve del diente aparece como una serie de valles y cimas. En las secciones longitudinales la dentina prenatal se observa como un valle, sin la presencia de los GCC. La línea neonatal está formada por una cima seguida de un valle. En la dentina postnatal los GCC se observan nítidamente como valles y cimas, con una clara diferenciación de las bandas accesorias (Fig. 2D). A mayor aumento, las capas incrementales fueron evidentes en los primeros GCC. Las secciones transversales mostraron el mismo número de GCC que las secciones longitudinales. La identificación de los GCC en el cemento no fue posible.

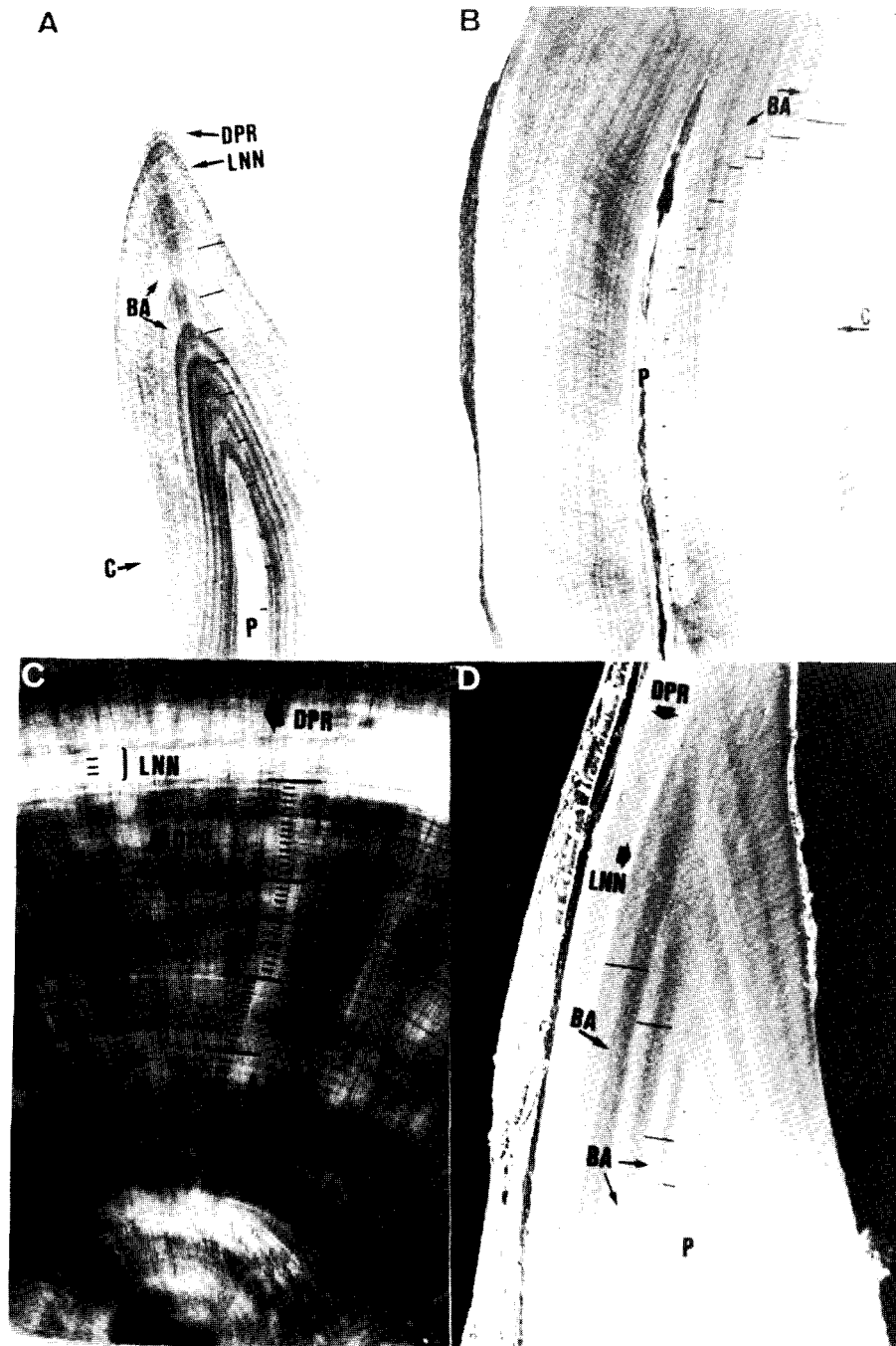


Fig. 2: Secciones de dientes de delfín chileno, *Cephalorhynchus eutropia*, observadas bajo diferentes técnicas microscópicas. A) Luz transmitida, sección longitudinal (JAO 067; 9,5 GCC). Aumento: 43,5X; B) Luz transmitida, sección longitudinal (JAO 103; 19 GCC). Aumento: 94X; C) Luz polarizada, sección transversal (JAO 067). Aumento: 128X; D) Microscopia electrónica de barrido, sección longitudinal (JAO 084; 4 GCC). Aumento: 93,3X. Las barras muestran los límites de cada GCC. BA= banda accesoria; C=cemento; DPO=dentina postnatal; DPR= dentina prenatal; LNN= línea neonatal; P=cavidad pulpar.

Tooth sections of Chilean dolphins, *Cephalorhynchus eutropia*, observed under three microscopical techniques. A) Transmitted light, longitudinal section (JAO 067; 9.5 GLGs). Magnification: 43.5X; B) Transmitted light, longitudinal section (JAO 103; 19 GLGs). Magnification: 94X; C) Polarizing light, transversal section (JAO 067). Magnification: 128X; D) Scanning electron microscopy, longitudinal section (JAO 084; 4 GLGs). Magnification: 93.3X. The bars show the limits of the GLGs. BA= accessory layer; C= cementum; DPO= postnatal dentine; DPR= prenatal dentine; LNN= neonatal line; P= pulp cavity.

DISCUSION

Las diferencias observadas en el tiempo de descalcificación entre hembras y machos se deben probablemente al tamaño de la muestra analizada. Sin embargo, son muchos los factores que influyen en el tiempo de descalcificación del diente, entre ellos la edad, la longitud corporal, tamaño del diente, el tipo de descalcificador y el volumen en el cual es sumergido el diente (Myrick et al. 1983).

El delfín chileno muestra un patrón de depositación de los grupos de capas de crecimiento (GCC) similar al descrito para otros delfínidos (Hohn 1980a, Gurevich et al. 1980, Myrick et al. 1983, Hohn et al. 1989), incluyendo a sus congénéricos *C. commersonii* (Lockyer et al. 1988) y *C. hectori* (Slooten 1991).

No hubo dificultad en diferenciar los últimos GCC, a excepción de un ejemplar en el que se identificaron 19,0 GCC y la cavidad pulpar estaba casi ocluida (Fig. 2B). La situación observada en este individuo indicaría que la depositación de la dentina estaría llegando a su término. Sin embargo, la lectura de los GCC no pudo ser corroborada con exactitud. En varias especies de odontocetos, la lectura de los GCC en la dentina puede verificarse con la lectura de GCC en el cemento (Myrick et al. 1983, Pinedo 1991). Esto no fue posible en el delfín chileno, debido a que los límites de los GCC en el cemento son difusos. Un problema similar ha sido descrito en *C. commersonii* (Lockyer et al. 1988) y *C. hectori* (Slooten 1991).

A pesar que las bandas accesorias prominentes dificultan la identificación de los límites entre los dos primeros GCC, su posición generalmente central permite identificar estas bandas con cierta seguridad cuando el lector se ha familiarizado con ellas. Aunque existe variación entre los individuos, el número y disposición de las bandas accesorias en la dentina parece ser constante para cada animal.

Las medidas del ancho de los GCC proporcionadas en este estudio deben ser consideradas aproximadas. La exactitud de los límites puede ser conocida sólo por aplicación de marcadores como la tetraciclina o mediante extracciones anuales. Sin embargo,

las medidas y tamaños relativos de los GCC reducen la probabilidad de que las bandas accesorias sean interpretadas como límites de GCC (Hohn et al. 1989). Las medidas del ancho de los GCC, así como la tasa de depositación de los GCC, han sido descritas para varias especies, incluyendo *Tursiops truncatus* (Sergeant 1959, Hohn 1980a, Hohn et al. 1989), *Phocoena phocoena* (Nielsen 1972, Gaskin & Blair 1977, Van Utrecht 1981), *Lagenorhynchus obscurus* (Best 1976), *Stenella longirostris* (Perrin et al. 1977, Myrick et al. 1983, Myrick et al. 1984), *Pontoporia blainvillei* (Kasuya & Brownell 1979, Pinedo 1991), *Stenella attenuata* (Myrick et al. 1983) y *Globicephala macrorhynchus* (Kasuya & Matsui 1984). Las otras especies del género *Cephalorhynchus* no han sido sujetas a este tipo de estudio (Lockyer et al. 1988, Slooten 1991).

El uso de luz polarizada en este estudio permitió conocer la ultraestructura de los GCC. En el delfín chileno, la diferenciación de las capas en la dentina prenatal es difícil especialmente en la región de depositación temprana, lo cual también ha sido informado para *Stenella attenuata* por Myrick (1980). Este investigador sugiere que es posible que algún "crecimiento a pulso" que gobierna la depositación de capas en el esmalte ya no es lo suficientemente intenso para producir capas visibles en la predentina o que otra técnica sea necesaria para detectar bandas existentes, pero indistintas. Probablemente esta última sea la causa que impidió observar capas en el esmalte y en la predentina de dientes del delfín chileno. Las capas incrementales observadas en la línea neonatal son similares a las bandas encontradas por Myrick (1980) en *Stenella attenuata*.

La frecuencia de aproximadamente 12 a 13 incrementos en cada GCC observados en dientes del delfín chileno también ha sido descrita para otros mamíferos marinos. Algunos autores han relacionado esta frecuencia con los ciclos lunares (Laws 1962, Myrick 1980). Sólo un espécimen presentó 10 capas incrementales en el último GCC, lo cual indicaría que este GCC aún no se había depositado completamente. Esto fue corroborado al utilizar microscopia de luz transmitida, estimándose que el individuo tenía 1,5 GCC.

Los valles y cimas observados con microscopia electrónica de barrido son equivalentes a las bandas opacas y translúcidas observadas con microscopia de luz transmitida y luz polarizada. El patrón de los GCC es más fácil de identificar, porque la microscopia electrónica de barrido muestra imágenes tridimensionales, aumentando el contraste topográfico entre las bandas. El relieve que se observa entre los valles y cimas permite distinguir con seguridad el límite de cada GCC, en especial de los dos primeros GCC, lo cual es menos evidente al utilizar microscopia convencional. Las bandas accesorias presentes en los primeros GCC se pueden identificar con facilidad, ya que son prominentes y ocupan generalmente una posición central. Las capas incrementales son difíciles de identificar en las micrografías debido a los pequeños cambios minerales que ocurren a través de la depositación sucesiva de incrementos, lo cual no siempre produce suficiente contraste en las secciones para hacer los incrementos individuales más claros (Hohn 1980b).

A partir de los resultados hallados en este estudio podemos enumerar las siguientes conclusiones:

- 1) el patrón de depositación de los grupos de capas de crecimiento (GCC) en la dentina del delfín chileno es similar al de otros delfínidos;
- 2) los GCC del cemento son difíciles de diferenciar, tal como ha sido descrito para otras especies del género;
- 3) la microscopia de luz polarizada reveló entre 12 y 13 bandas incrementales en cada GCC. Estas bandas han sido asociadas por otros autores a ciclos lunares.

La información sobre determinación de edad obtenida en este estudio constituye uno de los primeros pasos hacia la comprensión de los parámetros vitales del delfín chileno. En conjunto con la edad, la contribución de futuros estudios sobre reproducción y crecimiento ayudará a discernir los posibles efectos que la interacción con la pesquería y otras actividades humanas podrían tener sobre esta especie endémica de Chile.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Jorge Oporto, Inés Siegmund y Ricardo Silva por su ayuda durante el desarrollo de este estudio. Cristina Pinedo, Albert Myrick, Christina Lockyer, Enzo Crovetto y Laura Chávez contribuyeron con sus comentarios sobre el manuscrito y en la obtención de literatura. Este estudio fue financiado por la Cetacean Society International y el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT 203/89).

LITERATURA CITADA

- AGUAYO A (1975) Progress report on small cetacean research in Chile. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32: 1123-1143.
- BEST PB (1976) Tetracycline marking and the rate of growth layer formation in the teeth of a dolphin (*Lagenorhynchus obscurus*). *South African Journal of Science* 72: 216-218.
- BROWNELL RL & GP DONOVAN (1988) Biology of the Genus *Cephalorhynchus*. Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 9): 1-344.
- CHIVERS SJ & AC MYRICK (1991) Comparison of age at sexual maturity for two stocks of offshore spotted dolphins subjected to different rates of exploitation. National Marine Fisheries Service, Southwest Fisheries Science Center. Administrative Report LJ-91-31: 1-19.
- GASKIN DE & BA BLAIR (1977) Age determination of harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, in the western North Atlantic. *Canadian Journal of Zoology* 55: 18-30.
- GOODALL RNP (1994) Chilean dolphin *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846). En: Ridgway SH & SR Harrison (eds) *Handbook of marine mammals*, Volume 5: 269-287. Academic Press, San Diego.
- GOODALL RNP, KS NORRIS, AR GALEAZZI, JA OPORTO & IS CAMERON (1988) On the Chilean dolphin, *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846). Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 9): 197-257.
- GOREN AD, PF BRODIE, S SPOTTE, GC RAY, HW KAUFMAN, AJ GWINNETT, JJ SCIUBBA & JD BUCK (1987) Growth layer groups (GLGs) in the teeth of an adult belukha whale (*Delphinapterus leucas*) of known age: evidence for two annual layers. *Marine Mammal Science* 3: 14-21.
- GUREVICH V, B STEWART & LH CORNELL (1980) The use of tetracycline in age determination of common dolphins, *Delphinus delphis*. Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 3): 165-169.
- HOHN AA (1980a) Age determination and age related factors in the teeth of western North Atlantic bottlenose dolphins. *The Scientific Reports of the Whales Research Institute* 32: 1-66.
- HOHN AA (1980b) Analysis of growth layers in the teeth of *Tursiops truncatus* using light microscopy, microradiography, and SEM. Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 3): 155-160.

- HOHN AA, MD SCOTT, RS WELLS & JC SWEENEY (1989) Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science* 5: 315-242.
- KASUYA T & RL BROWNELL (1979) Age determination, reproduction, and growth of franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*. *The Scientific Reports of the Whales Research Institute* 31: 45-67.
- KASUYA T & S MATSUI (1984) Age determination and growth of the short-finned pilot whale off the Pacific coast of Japan. *The Scientific Reports of the Whales Research Institute* 35: 57-91.
- LAWS RM (1962) Age determination of pinnipeds with special reference to growth layers in the teeth. *Saugetierkunde Mitteilungen* 27: 129-146.
- LEATHERWOOD S & RR REEVES (1983) *The Sierra Club Handbook of Whales and Dolphins*. Sierra Club Books, San Francisco. 302 pp.
- LOCKYER C, RNP GOODALL & AR GALEAZZI (1988) Age and body length characteristics of *Cephalorhynchus commersonii* from incidentally-caught specimens off Tierra del Fuego. *Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 9)*: 103-118.
- MOLINA DM & JA OPORTO (1993) Comparative study of dentine staining techniques to estimate age in the Chilean dolphin, *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846). *Aquatic Mammals* 19: 45-48.
- MYRICK AC (1980) Examination of layered tissues of odontocetes for age determination using polarized light microscopy. *Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 3)*: 105-112.
- MYRICK AC, EW SHALLENBERGER, I KANG & DB MACKAY (1984) Calibration of dental layers in seven captive Hawaiian spinner dolphins, *Stenella longirostris*, based on tetracycline labeling. *Fishery Bulletin* 82: 207-225.
- MYRICK AC, AA HOHN, PA SLOAN, M KIMURA & DD STANLEY (1983) Estimating age of spotted and spinner dolphins (*Stenella attenuata* and *Stenella longirostris*) from teeth. NOAA Technical Report. National Marine Fisheries Service, Southwest Fisheries Center 30: 1-17.
- NIELSEN HG (1972) Age determination of the harbour porpoise *Phocoena phocoena* (L.) (Cetacea). *Videnskabelige Meddelelser fra dansk Naturhistorisk Forening* 135: 61-84.
- OPORTO, JA & L BRIEVA (1990) Mortalidad de pequeños cetáceos por la actividad pesquera artesanal en la localidad de Queule, sur de Chile. *Anales IV Reunión de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos de América del Sur*: 197-204.
- PERRIN WF, DB HOLTS & RB MILLER (1977) Growth and reproduction of the eastern spinner dolphin, a geographical form of *Stenella longirostris* in the eastern tropical Pacific. *Fishery Bulletin* 75: 725-750.
- PINEDO MC (1991) Development and variation of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. Ph.D. Thesis. University of California, Santa Cruz. 406 pp.
- READ AJ (1990) Age at sexual maturity and pregnancy rates of harbour porpoises *Phocoena phocoena* from the Bay of Fundy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 561-5.
- REEVES, R.R. & S LEATHERWOOD (1994) Dolphins, porpoises, and whales: 1994-1998 Action Plan for the Conservation of Cetaceans. IUCN, Gland, Switzerland. 92 pp.
- SCHEFFER VB & AC MYRICK (1980). A review of studies to 1970 of growth layers in the teeth of marine mammals. *Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 3)*: 51-63.
- SERGEANT DE (1959) Age determination in odontocete whales from dentinal growth layers. *Norsk Hvalfangst-Tidende* 48: 273-288.
- SLOOTEN E (1991) Age, growth, and reproduction in Hector's dolphins. *Canadian Journal of Zoology* 69: 1689-1700.
- VAN UTRECHT WL (1981) Comparison of accumulation patterns in layered dentinal tissue of some odontoceti and corresponding patterns in baleen plates and ear plugs of Balaenopteridae. *Beaufortia* 32: 111-122.