



**INFORME RELATIVO AL CONTRATO PARA
LOS ESTUDIOS BIOLÓGICOS - MUESTREOS
DE ADULTOS (ICCAT GBYP 05/2017-a) PARA
EL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL
ATÚN ROJO PARA TODO EL ATLÁNTICO**

**REPORT ON THE CONTRACT FOR
BIOLOGICAL STUDIES-SAMPLING FOR
ADULTS (ICCAT GBYP 05/2017-a) OF
BLUEFIN TUNA IN THE ATLANTIC-WIDE
RESEARCH PROGRAMME**

Documento N°5

Document N°5

Ref: DT2018/009

ICCAT-GBYP



ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L.

D O C U M E N T O S

INFORME RELATIVO AL CONTRATO PARA LOS ESTUDIOS BIOLÓGICOS - MUESTREOS DE ADULTOS (ICCAT GBYP 05/2017-a) PARA EL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL ATÚN ROJO PARA TODO EL ATLÁNTICO

Documento Nº5

Ref: DT2018/009

PROMOTOR

ICCAT

COORDINADOR

Antonio Belmonte Ríos (*Lcdo. Biología*)

EQUIPO DE TRABAJO

Carlos Carrasco López (Técnico Superior Acuicultura)

Desiderio Andreo Romera (*Lcdo. Biología*)

José Miguel Gutiérrez Ortega (*Lcdo. Biología*)

Pedro Miñano Alemán (*Lcdo. Biología*)

David Sánchez Martínez (Técnico Superior Acuicultura)

Ezequiel Martínez Mateo (*Lcdo. Biología*)

MURCIA, Enero 2018



ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L.

MURCIA

Polig Ind. Oeste

C/ Uruguay, s/n - Parc 8/27 Nave 31

30820 Alcantarilla (MURCIA)

Tfno: 968 845 265 / Fax: 968 894 354

taxon@taxon.es

CANARIAS

C/ Amanecer, Nº30. Local 3 Dcha.

La Laguna. 38206 S/C Tenerife.

Tfno: 922 514 696 / Fax: 922 825 596

canarias@taxon.es

COMUNIDAD VALENCIANA

C/ Reina Victoria, Nº 114, bajo.

03201 Elche (Alicante).

Tfno: 966 618 136

comvalenciana@taxon.es

Copyright © 2018 Taxon Estudios Ambientales, S.L.

Los datos y resultados generados por este trabajo son propiedad del Promotor del mismo.

Los derechos sobre la propiedad intelectual de este documento pertenecen a los autores de los respectivos apartados.

Ninguna parte del presente documento puede ser copiada, almacenada, reproducida o transmitida por ningún medio electrónico, fotocopia, registro u otros medios sin permiso por escrito del Promotor y autores.

índice

1. ANTECEDENTES	1
2. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA	2
3. MATERIAL Y MÉTODOS	7
3.1. CRONOLOGÍA DE MUESTREOS	7
3.2. METODOLOGÍA.....	7
4. RESULTADOS	14
5. DIFICULTADES	15
5.1. DIFICULTAD DE MUESTREO DEBIDO A CLIMATOLOGÍA MARÍTIMA.	15
5.2. DIFICULTAD DE OBTENER OTOLITOS COMPLETOS Y DE CALIDAD.	15
5.3. DIFICULTAD DE OPERAR EN CUBIERTA DE BUQUE.....	16
5.4. DIFICULTAD DE RENTABILIZAR AL MÁXIMO LOS RECURSOS.....	18
5.5. DIFICULTAD DE MUESTREAR EJEMPLARES PARA MERCADO DE CONGELADO.....	18

1. ANTECEDENTES

En la Fase 5 del ICCAT-GBYP, “el Comité directivo recomendó iniciar un estudio de viabilidad para un marcado genético de ejemplares estrechamente emparentados (close kin), una nueva metodología que pudiera ser útil para la evaluación de la población del atún rojo independiente de las pesquerías. Uno de los puntos clave para continuar con este enfoque es evaluar la viabilidad de un gran muestreo para atunes rojos adultos y juveniles del año. Mientras que para los juveniles del año hubo un muestreo suficiente en algunas zonas en fases anteriores del ICCAT GBYP, para los atunes rojos adultos fue mucho más problemático el muestreo por varias razones. Este hecho también impidió el desarrollo de la clave de edad-talla (ALK). Además, el marcado genético de ejemplares estrechamente emparentados (close kin) requiere que se recojan grandes muestras de atunes rojos capturados durante la temporada de reproducción en las principales zonas de reproducción; en los últimos años en el mar Mediterráneo estos peces se están destinando a las granjas con fines de cría.” Es debido a esa necesidad de información de atunes adultos capturados en el mar Balear, y otras áreas del Mar Mediterráneo, por la que ICCAT-GBYP, con nº de salida 472 y fecha 24 de marzo de 2017, emite una invitación para realización de trabajos que cubran estas carencias.

Con fecha 16 de mayo de 2017, la Secretaría de GBYP-ICCAT emite una invitación con número de salida 767 a Taxon Estudios Ambientales, S.L. para darle a conocer la propuesta emitida por ICCAT relativa a la realización de Estudios Biológicos-Muestreos de Adultos del Programa de Investigación Sobre el Atún Rojo para todo el Atlántico (ICCAT-GBYP-Fase 7), y conocer la disponibilidad de nuestra Organización para la realización de dichos estudios.

El compromiso entre ICCAT y TAXON para obtener muestras de la población de atún rojo capturada en el Mar Balear en la temporada de pesca de 2017 y posteriormente estabulada en las jaulas de engorde propiedad de Tuna Graso, S.A.U, se formaliza con la la firma del contrato entre ICCAT y TAXON.

Tras la firma del contrato se comenzaron los trabajos fijados por ICCAT-GBYP para cumplir con los objetivos de dicho Programa de Investigación (ICCAT-GBYP-Fase 7).

Por tanto en el presente informe se recoge una descripción completa del trabajo realizado durante el muestreo biológico, una descripción detallada de la metodología y los protocolos, una tabla detallada con el número definitivo de muestras, basada en la estructura facilitada por el ICCAT-GBYP y un resumen ejecutivo del informe final.

2. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA

Las instalaciones de Tuna Graso, S.A.U. se encuentran integrada en la **Asociación FARM de empresas de acuicultura de la Región de Murcia**, formada por SERVICIOS ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO S.L., LEBECHE SPAIN, S.L. (I, II y III), PISCIFACTORÍAS ALBALADEJO, S.L. y BLUE & GREEN PISCIFACTORÍAS DEL SURESTE, S.L.U.

La empresa **TAXON ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L.** ejerce como Operador Ambiental nombrada por dichas mercantiles y es la encargada de la realización del Programa de Vigilancia Ambiental siguiendo las prescripciones técnicas y los contenidos establecidos en la Declaración de Impacto Ambiental, emitida por la Dirección General de Medio Ambiente de la Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.

Entre dichas instalaciones se encuentra el polígono declarado de interés acuícola de San Pedro del Pinatar al norte, constituido por cuatro parcelas ocupadas por las siguientes empresas; Servicios Atuneros del Mediterráneo (parcela A), Lebeche Spain San Pedro III (parcela B), Lebeche Spain San Pedro I (parcela C) y Tuna Graso, S.A.U. (parcela D). Cada concesión queda definida por una superficie rectangular de 1600 x 400 m, separadas entre sí por pasillos de 100 m, de forma que el tamaño total del polígono es de 1600 x 1900 m, es decir una superficie total de 304 ha. Dicha superficie se encuentra en fondos cuya profundidad oscila entre 40 y 43 m.



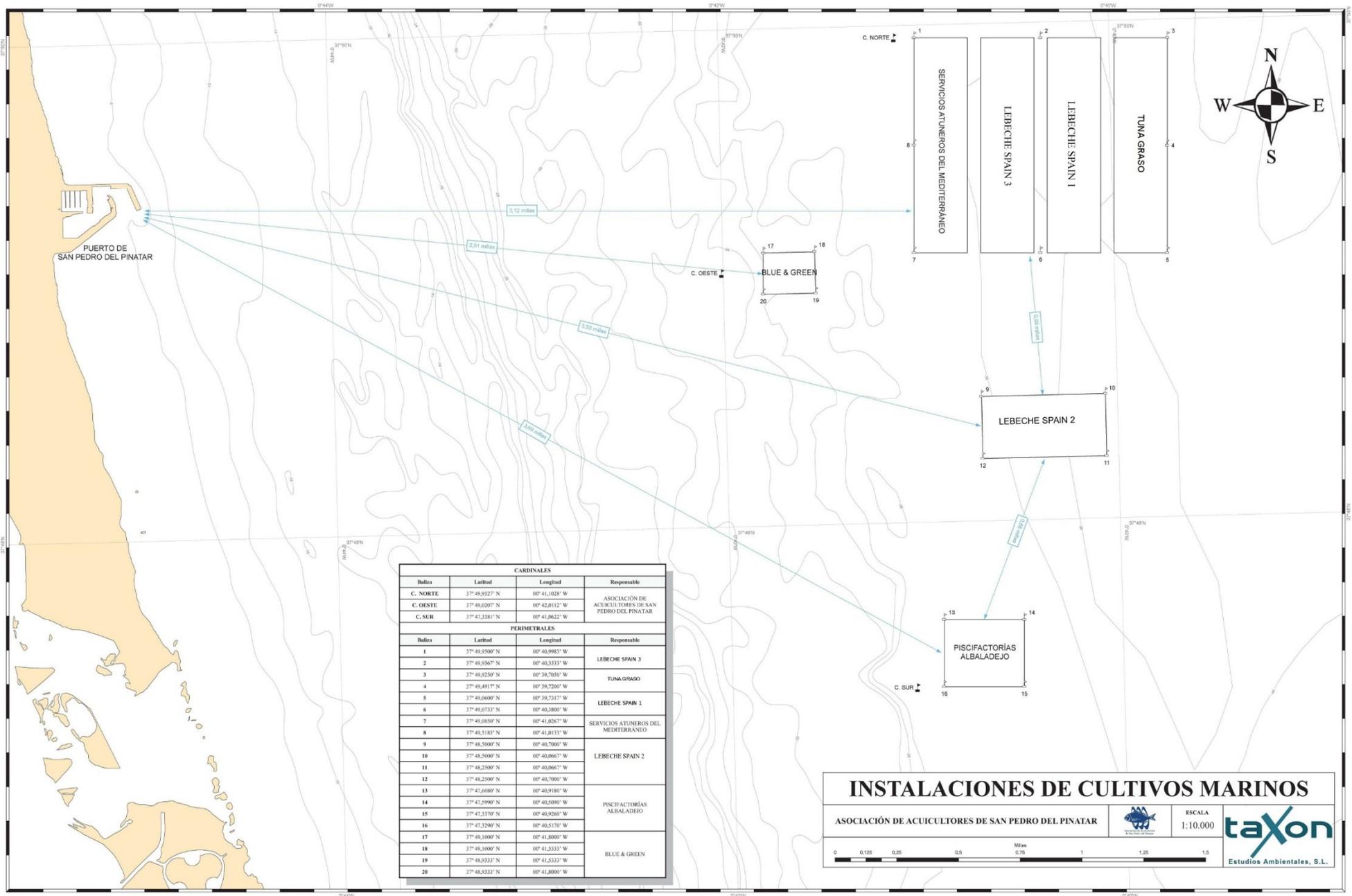
Fotografía 1. Instalación de Jaulas flotantes en mar abierto en la zona de San Pedro del Pinatar, (Murcia, SE de España).

El área donde se ubican las 7 instalaciones de acuicultura se caracteriza por la presencia en sus fondos de una biocenosis de detrítico que aparece a partir del límite inferior de la pradera de *Posidonia oceanica*, que en esta zona se sitúa entre los 26 y 31 metros de profundidad. A estas profundidades los sedimentos que soportan esta comunidad presentan un importante componente biogénico y el grado de enfangamiento es muy bajo, como corresponde a una zona donde el hidrodinamismo en general es elevado, por lo que podría ser considerado como un detrítico no enfangado con presencia de una rica y diversa comunidad infaunal dominada por moluscos y poliquetos. Hacia el norte y hacia costa hay una zona con contenidos mayores en materiales finos, resultado de aportes terrígenos, catalogada como detrítico enfangado, con una comunidad infaunal ligeramente menos desarrollada. El detrítico fangoso irrumpe en el detrítico costero formando lenguas, de manera que en la zona de intersección se intercalan franjas de ambas comunidades.

A lo largo de todo el sector afloran alineaciones de naturaleza rocosa, que forman bruscos desniveles, denominados localmente “barras”, resultado del concrecionamiento de alineaciones arenosas formadas por sedimentación siguiendo la corriente dominante y procesos de subsidencia y la elevación del nivel del mar.

Al norte de Cabo de Palos, se encuentra la pradera de *Posidonia oceanica* más extensa y amplia, junto con la de Calblanque, del litoral murciano, con una superficie de aproximadamente 5.000 hectáreas hasta poco más allá del Término de la Provincia de Alicante, a partir del cual continúa hacia Guardamar, donde desaparece por influencia de

la desembocadura del río Segura. El principal factor determinante de esta amplia distribución en esta zona es la amplitud de la plataforma continental (que oscila entre 15'5 Km en el cabo de Palos y 31 Km en el límite provincial) y, por tanto, las suaves pendientes (< 3%). La pradera que se extiende desde la playa de Levante de Cabo Palos hasta El Mojón, no sólo se caracteriza por su excepcional extensión sino que su grado de desarrollo estructural (biomasa y cobertura) es también muy elevado y además su límite inferior alcanza una gran profundidad, 31 m aproximadamente.



CARDINALES			
Balzo	Latitud	Longitud	Responsable
C. NORTE	37° 49,8327' N	00° 41,1828' W	ASOCIACIÓN DE ACUICULTORES DE SAN PEDRO DEL PINATAR
C. OESTE	37° 49,6007' N	00° 42,8112' W	
C. SUR	37° 47,3381' N	00° 41,8602' W	
PERIMETRALES			
Balzo	Latitud	Longitud	Responsable
1	37° 49,9500' N	00° 40,9983' W	LEBECHE SPAIN 3
2	37° 49,9367' N	00° 40,3533' W	
3	37° 49,9250' N	00° 39,7050' W	
4	37° 49,4917' N	00° 39,7200' W	TUNA GRASO
5	37° 49,0600' N	00° 39,7317' W	LEBECHE SPAIN 1
6	37° 49,0733' N	00° 40,3800' W	
7	37° 49,0850' N	00° 41,8267' W	
8	37° 49,5183' N	00° 41,8133' W	SERVICIOS ATUNEROS DEL MEDITERRANEO
9	37° 48,5000' N	00° 40,7000' W	
10	37° 48,5000' N	00° 40,8667' W	
11	37° 48,2500' N	00° 40,8667' W	LEBECHE SPAIN 2
12	37° 48,2500' N	00° 40,7000' W	
13	37° 47,6080' N	00° 40,8180' W	
14	37° 47,5900' N	00° 40,5000' W	PISCIFACTORIAS ALBALADEJO
15	37° 47,3370' N	00° 40,8260' W	
16	37° 47,3290' N	00° 40,5170' W	
17	37° 49,1000' N	00° 41,8000' W	BLUE & GREEN
18	37° 49,1000' N	00° 41,5333' W	
19	37° 48,9333' N	00° 41,5333' W	
20	37° 48,9333' N	00° 41,8000' W	

INSTALACIONES DE CULTIVOS MARINOS

ASOCIACIÓN DE ACUICULTORES DE SAN PEDRO DEL PINATAR

ESCALA
1:10.000

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. CRONOLOGÍA DE MUESTREOS

Durante los meses de septiembre y octubre se realizaron los muestreos de los ejemplares de atún rojo sacrificados con destino al mercado de “congelado”, en las fechas que a continuación se detallan, según viene reflejado en la tabla siguiente.

Fecha de muestreo	Tipo de muestreo	Mercado destino	n.º de ejemplares muestreados
4/10/17	Biometría, espina , músculo, gónada	Congelado	31
5/10/17	Extracción de otolitos		14
6/10/17	Extracción de otolitos		14
17/10/17	Biometría, espina , músculo, gónada	Congelado	42
18/10/17	Extracción de otolitos		20
19/11/17	Extracción de otolitos		22
30/10/17	Biometría, espina , músculo, gónada	Congelado	40
31/10/17	Extracción de otolitos		20
02/11/17	Extracción de otolitos		20
22/11/17	Biometría, espina , músculo, gónada	Congelado	55
23/11/17	Extracción de otolitos		25
24/11/17	Extracción de otolitos		30
24/11/17	Biometría, espina , músculo, gónada	Congelado	56
27/11/17	Extracción de otolitos		30
28/11/17	Extracción de otolitos		26
Total ejemplares 224			

El muestreo, que en principio sería de 150 ejemplares, finalmente fue de 224.

3.2. METODOLOGÍA

Para llegar a la zona de muestreo y poder acceder a los buques de trabajo de Tuna Graso se utilizó una embarcación de TAXON. Antes de comenzar las maniobras, el personal de TAXON distribuía el material de muestreo en la cubierta de los buques.

El protocolo de toma de muestras y datos seguido fue el establecido por ICCAT/GBYP. Las muestras fueron convenientemente etiquetadas y se aseguró en todo momento su trazabilidad siguiendo las indicaciones de los protocolos de ICCAT/GBYP. El volcado de datos a las bases de datos facilitadas por ICCAT/GBYP se realizó según las indicaciones y protocolos facilitados por ICCAT.

Finalmente la conservación de las muestras y su transporte hasta la institución

determinada por ICCAT/GBYP, en este caso AZTI.

Los materiales para el muestreo y los conservantes fueron los determinados por los protocolos facilitados por ICCAT/GBYP.



Fotografía 2. Embarcación de Taxon a la derecha de la imagen, a la izquierda buque de maniobra, el buque "Dolfjin" de labores de apoyo y vigilancia, y al fondo de la imagen el "Paloma Reefer", buque congelador.

El personal de TAXON ha realizado los muestreos para obtener información de:

- **longitud hasta la horquilla (FL)**, en cm con calibre de acero inoxidable con capacidad de medida de hasta 300 cm. El calibre mide un máximo de 317 cm.



Fotografía 3. Muestreo de medida con calibre en buque congelador.

- **peso total**, en kg



Fotografía 4. Pesaje de ejemplar en cubierta del buque congelador

- **extracción de espina dorsal**



Fotografía 5. Extracción de espina dorsal en cubierta de buque congelador



Fotografía 6. Espina dorsal procesada en laboratorio.

- **identificación del sexo**



Fotografía 7. Recogida de vísceras y gónadas para sexado de "visu" de ejemplares de atún rojo.

- Muestreo de **tejidos para estudios genéticos** en cubierta del buque de maniobra.



Fotografía 8. Toma de muestras en cubierta de buque de maniobra .

- **Muestreo de otolitos**



Fotografía 9. Extracción de otolitos,

Para la extracción de otolitos las cabezas de los atunes se transportaron al puerto de San Pedro y de aquí a las instalaciones en tierra de TG, situadas en La Palma

(Cartagena).



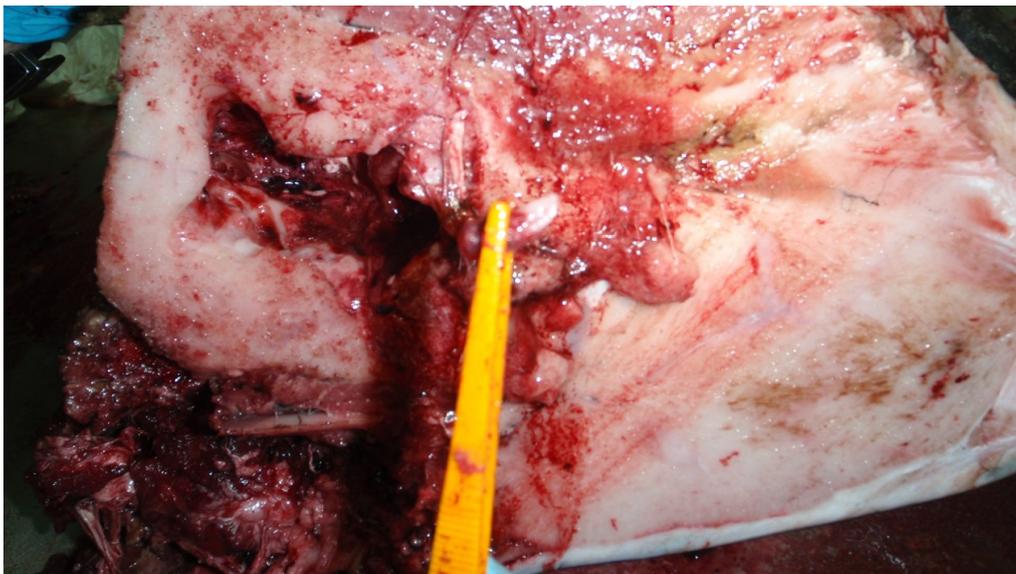
Fotografía 10. Extracción de los otolitos en la sala blanca de TG,



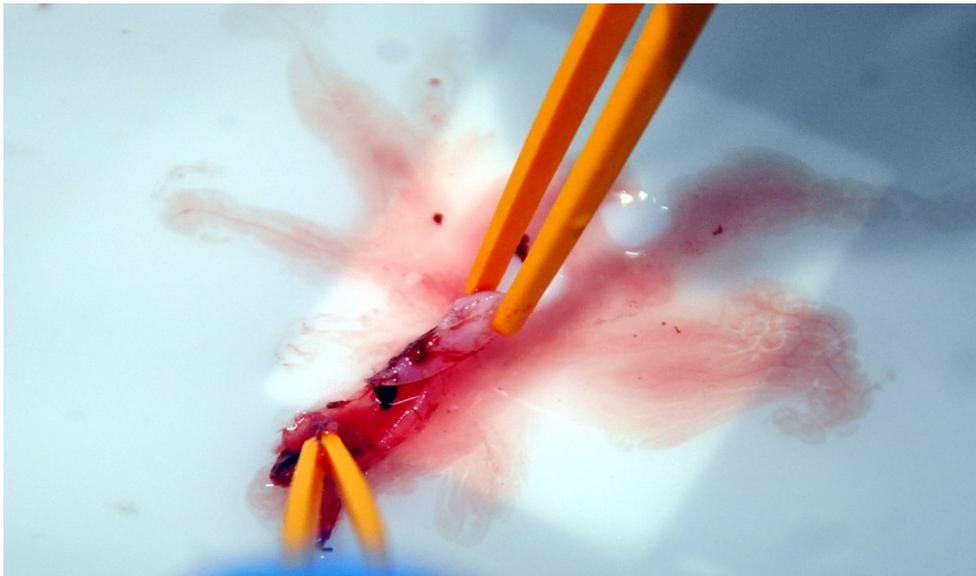
Fotografía 11. Extracción de otolitos.



Fotografía 12. Muestreo en sala blanca de TG.



Fotografía 13. Extracción de otolitos según protocolo de ICCAT/GBYP



Fotografía 14. Separación del otolito de la membrana otolítica para su lavado con agua desionizada y posterior inmersión en ácido nítrico al 0,1% durante 5', según metodología recomendada por Rooker *et al.* (2008)



Fotografía 15. Preparación de muestras.

4. RESULTADOS

Se muestrearon un total de 224 atunes, de los que se obtuvieron datos de longitud y peso, otolitos, sexo, gónadas, espina dorsal y músculo con la distribución que a continuación se detalla;

- El peso máximo de los 224 ejemplares muestreados fue de 367 kg, el mínimo de 168 kg, con una media de 264,35 kg.

- La longitud máxima de los ejemplares fue de 259 cm, la mínima de 149 cm, con una media de 217,39 cm.
- De los 224 ejemplares se obtuvieron muestras de otolitos en 197 de ellas. Perdiéndose por mala gestión 12 y no encontrando ningún otolito en 15, debido al destrozo de la cavidad craneal provocado por el proyectil de la lupara.
- De los 224 ejemplares se pudo sexar a 158 de los cuales 85 eran machos y 73 hembras.
- Fueron recolectadas 158 gónadas, con un peso máximo de 1.826,74 gr, y un peso medio de 673,14 gr
- A todos los ejemplares se les pudo recolectar las muestras biológicas de espina y músculo.

Todos estos datos quedan reflejados en la tabla de datos (hoja de cálculo), que se adjunta a este informe (GBYP data form_2017_TAXON.xlsx), utilizando el modelo ofrecido por la secretaría de ICCAT/GBYP.

5. DIFICULTADES

5.1. DIFICULTAD DE MUESTREO DEBIDO A CLIMATOLOGÍA MARÍTIMA.

Como en años anteriores nos encontramos con la dificultad derivada de que los operadores de las jaulas y el equipo de muestreo ven restringida su capacidad de planificar cada salida al mar para la recogida de muestras durante las maniobras de sacrificio debido a los cambios bruscos de la dirección e intensidad de la corriente marina en el área de fondeo de las jaulas, parámetro difícil de conocer a priori con los sistemas de previsión de clima marítimo existentes en la actualidad, aunque en el muestreo de 2017 solamente en una ocasión esta circunstancia impidió llevar a cabo el muestreo por suspenderse la “matanza” programada para ese día, por no haber las mínimas garantías de seguridad, aun estando todos los buques y equipos de operadores en el mar.

5.2. DIFICULTAD DE OBTENER OTOLITOS COMPLETOS Y DE CALIDAD.

La obtención de otolitos completos y de calidad al igual que el año anterior sigue siendo complicada debido al método empleado de sacrificio, la lupara, pértiga metálica de 2m de longitud aproximadamente, en cuyo extremo se inserta un cartucho con bala, que se dispara cuando se presiona con el extremo de la pértiga sobre la cabeza del atún. Este

método busca la muerte instantánea de los ejemplares por incidir sobre el cerebro. Esto implica que cuando la bala penetra en la cavidad craneal produce una destrucción de los tejidos. Como efecto colateral, la mayoría de las veces, se dañan los otolitos también.



Fotografía 16. Lupara. Origen: Google images



Fotografía 17. Cavidad craneal destrozada por el impacto de la bala.

5.3. DIFICULTAD DE OPERAR EN CUBIERTA DE BUQUE.

La inestabilidad de la cubierta provocada por el agua de limpieza, y la sangre y la grasa de los atunes complica notablemente la capacidad de operar.

En este muestreo la forma de pesar los atunes es una dificultad con la que nos encontramos, muchas veces se pesan más de un ejemplar al mismo tiempo y eso dificulta el elegir los mejores en cuanto al estado de la cabeza para el muestreo de otolitos. Y al mismo tiempo, esto dificulta la toma de muestras de gónadas, que al ser varios individuos

los pesados y pesar uno entre varios grupos también hace que sea difícil el tomar las muestras de todos los ejemplares aunque se tenga la biometría, ya de por sí complicada debido a lo aparatoso del calibre de acero empleado, que mide más de 3 m de longitud, y que hay que manejar entre la tripulación, sobre una cubierta no muy amplia y en donde se utilizan herramientas afiladas, garfios, motosierras mecánicas, etc.



Fotografía 18. Pesaje de ejemplares de atún rojo en cubierta de buque congelador Paloma Reefer en presencia de la responsable de la SG de Pesca, del Operador (Tuna Graso) y tripulación del buque.



Fotografía 19. Recogida de vísceras y gónadas para sexado de ejemplares en donde se ven las condiciones de trabajo (agua, grasa, sangre, vísceras, cuchillos, etc.)

5.4. DIFICULTAD DE RENTABILIZAR AL MÁXIMO LOS RECURSOS.

Al igual que el año anterior la extracción de los otolitos se realizó en la “sala blanca” de Tuna Graso, en La Palma (Cartagena), transportadas en camión refrigerado, siendo desviadas por error en alguna ocasión al gestor de residuos, perdiéndose todo el esfuerzo del muestreo.



Fotografía 20. Buque congelador “Paloma Reefer” junto al de maniobra, el Caladeros Tres.

5.5. DIFICULTAD DE MUESTREAR EJEMPLARES PARA MERCADO DE CONGELADO.

La maniobra de sacrificio para estos ejemplares es distinta que para los destinados a mercado de fresco. En el caso del congelado se sacrifican en una sola vez entre 30 y 50 ejemplares, lo que provoca que al buque congelador lleguen en una sola vez estos ejemplares que hay que procesar (ronquear) lo más rápido posible para introducir los lomos en el túnel de congelación a -60C. La situación se complica aún más por la dificultad comentada que supone trabajar sobre la cubierta del buque con una capa de sangre, grasa y agua que corre sobre ella, y la convierte en una superficie deslizante y resbaladiza que dificulta los movimientos, donde la posibilidad de caer al suelo se incrementa notablemente. Además, hay que trabajar entre varios grupos de miembros de la tripulación, hasta cinco, equipados con herramientas de corte (cuchillos, garfios,

motosierras, etc.), que en la mayoría de los casos no están muy dispuestos a facilitar la tarea de los muestreadores.

En resumen el grado de complejidad en el muestreo de ejemplares destinados al mercado de congelado respecto a los ejemplares destinados al mercado de fresco se incrementa debido al gran número de ejemplares sacrificados por cada maniobra.



Fotografía 21. Ejemplares sacrificados a la espera de ser izados al Paloma Reefer



Fotografía 22. Ronqueo de atunes en la cubierta del buque congelador "Paloma Reefer", para su congelación.

En Alcantarilla, a 1 de febrero de 2018



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Antonio Belmonte Ríos", written over a horizontal line.

Fdo. Antonio Belmonte Ríos

Biólogo Coleg. 9744-MU



**REPORT ON THE CONTRACT FOR
BIOLOGICAL STUDIES-SAMPLING FOR
ADULTS (ICCAT GBYP 05/2017-a) OF
BLUEFIN TUNA IN THE ATLANTIC-WIDE
RESEARCH PROGRAMME**

Document N°5

Ref: DT2018/009

ICCAT-GBYP



ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L.

DOCUMENTOS

**REPORT ON THE CONTRACT FOR
BIOLOGICAL STUDIES-SAMPLING FOR
ADULTS (ICCAT GBYP 05/2017-a) OF
BLUEFIN TUNA IN THE ATLANTIC-WIDE
RESEARCH PROGRAMME**

Ref: DT2018/009

CONTRACTOR
ICCAT

COORDINATOR
Antonio Belmonte Ríos (*Lcdo. Biología*)

WORK TEAM
Carlos Carrasco López (Técnico Superior Acuicultura)
Desiderio Andreo Romera (*Lcdo. Biología*)
José Miguel Gutiérrez Ortega (*Lcdo. Biología*)
Pedro Miñano Alemán (*Lcdo. Biología*)
David Sánchez Martínez (Técnico Superior Acuicultura)
Ezequiel Martínez Mateo (*Lcdo. Biología*)

MURCIA, January 2018



ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L.

MURCIA

Polig Ind. Oeste

C/ Uruguay, s/n - Parc 8/27 Nave 31

30820 Alcantarilla (MURCIA)

Tfno: 968 845 265 / Fax: 968 894 354

taxon@taxon.es

CANARIAS

C/ Amanecer, Nº30. Local 3 Dcha.

La Laguna. 38206 S/C Tenerife.

Tfno: 922 514 696 / Fax: 922 825 596

canarias@taxon.es

COMUNIDAD VALENCIANA

C/ Reina Victoria, Nº 114, bajo.

03201 Elche (Alicante).

Tfno: 966 618 136

comvalenciana@taxon.es

Copyright © 2018 Taxon Estudios Ambientales, S.L.

The data and results generated in this research work are property of the contractor.

Property intellectual rights on this document belong to the authors of the respective sections.

No part of this document may be copied, stored, reproduced or transmitted by any electronic medium, photocopying, recording or otherwise without the written permission of the Contractor and authors.

Index

1. BACKGROUND	6
2. GEOGRAPHIC LOCATION	7
3. MATERIAL AND METHODS	11
1.1. SAMPLING CHRONOLOGY	11
1.2. METODOLOGY.....	11
2. RESULTS	18
3. DIFFICULTIES	19
3.1. SAMPLING CONSTRAINTS RELATED WITH THE METEOROLOGICAL CONDITIONS.	19
3.2. CONSTRAINTS ON OBTAINING COMPLETE AND QUALITY OTOLITHS.....	19
3.3. CONSTRAINTS ON OPERATING ON THE DECK OF THE VESSEL.	20
3.4. CONSTRAINTS ON MAKING THE MOST OF RESOURCES.	21
3.5. CONSTRAINTS ON SAMPLING TUNAS FOR FROZEN MARKET.	22

1. BACKGROUND

In GBYP Phase 5, “the Steering Committee recommended to initiate the feasibility study for the close-kin genetic tagging, a new methodology that can be useful for a fishery-independent assessment of blue-tuna population. One of the key points for going on with this approach is assessing the feasibility of a bluefin tuna large sampling for both adults and juvenile specimens of the year. While young-of-the-year sampled were enough in some areas in previous ICCAT GBYP Phases, sampling the bluefin tuna adults were much more problematic for various reasons. This fact also prevented the development of an annual age-length keys (ALK). Furthermore, the close kin genetic tagging requires large amounts of samples collected from bluefin tuna fished during the spawning season in the main spawning areas; last years, in the Mediterranean Sea, these species are currently going to farms for breeding purposes. Due to the necessity of information about the bluefin tuna adults captured in Balearic Sea and other Mediterranean areas, the ICCAT-GBYP, sent an invitation, dated on 24th of March of 2017, with register number 472, to fill this information gap.

The 16th of May of 2017, the GBYP-ICCAT Secretariat issues an invitation with 767 register number to Taxon Estudios Ambientales, S.L. to inform of the proposal issued by ICCAT to carry out biological studies on adult sampling of bluefin tuna in the Atlantic-wide research programme (ICCAT-GBYP-Phase 7), and to check our availability to conduct such studies.

The commitment between ICCAT and TAXON to obtain population red tuna samples captured in the Balearic Sea in the 2017 fishing season, and then housed them in fattening farms property of the company Tuna Graso, S.A.U, is formalized with a consortium agreement signed between ICCAT and TAXON.

Hereafter the signing of the contract, the work set by ICCAT-GBY in order to achieve the objectives of the Research Program (ICCAT-GBYP- Phase 7) began.

This report collects a full description of the work carried out during the biological sampling, a detailed description of the methodology and protocols, a detailed table with the final number of samples (based on the structure provided by ICCAT-GBYP) and an executive summary of the final report.

2. GEOGRAPHIC LOCATION

Tuna Graso, S.A.U. belongs to the **Asociación FARM de empresas de acuicultura de la Región de Murcia**, whose members are SERVICIOS ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO S.L., LEBECHE SPAIN, S.L. (I, II y III), PISCIFACTORÍAS ALBALADEJO, S.L. y BLUE & GREEN PISCIFACTORÍAS DEL SURESTE, S.L.U.

TAXON ESTUDIOS AMBIENTALES, S.L. is the Environmental Operator appointed by the companies mentioned above. Also is the responsible of the realization of the Environmental Vigilance Program following the technical prescriptions and the information included in the Environmental Impact Statements (DIA) issued by the “Dirección General de Medio Ambiente de la Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia”.

The “Polygon” of San Pedro del Pinatar declared of aquaculture interest is located among this facilities in the north area. This is constituted for four plots occupied by the following companies; Servicios Atuneros del Mediterráneo (plot A), Lebeche Spain San Pedro III (plot B), Lebeche Spain San Pedro I (plot C) y Tuna Graso, S.A.U. (plot D). Each concession is defined for a rectangular area of 1600 x 400 m, separated from each other's by corridors of 100 m length. In this way the total size of the Polygon is 1600 x 1900 m, so the total area is 304 ha. The depth in this aquaculture area ranges between 40 and 43 m.



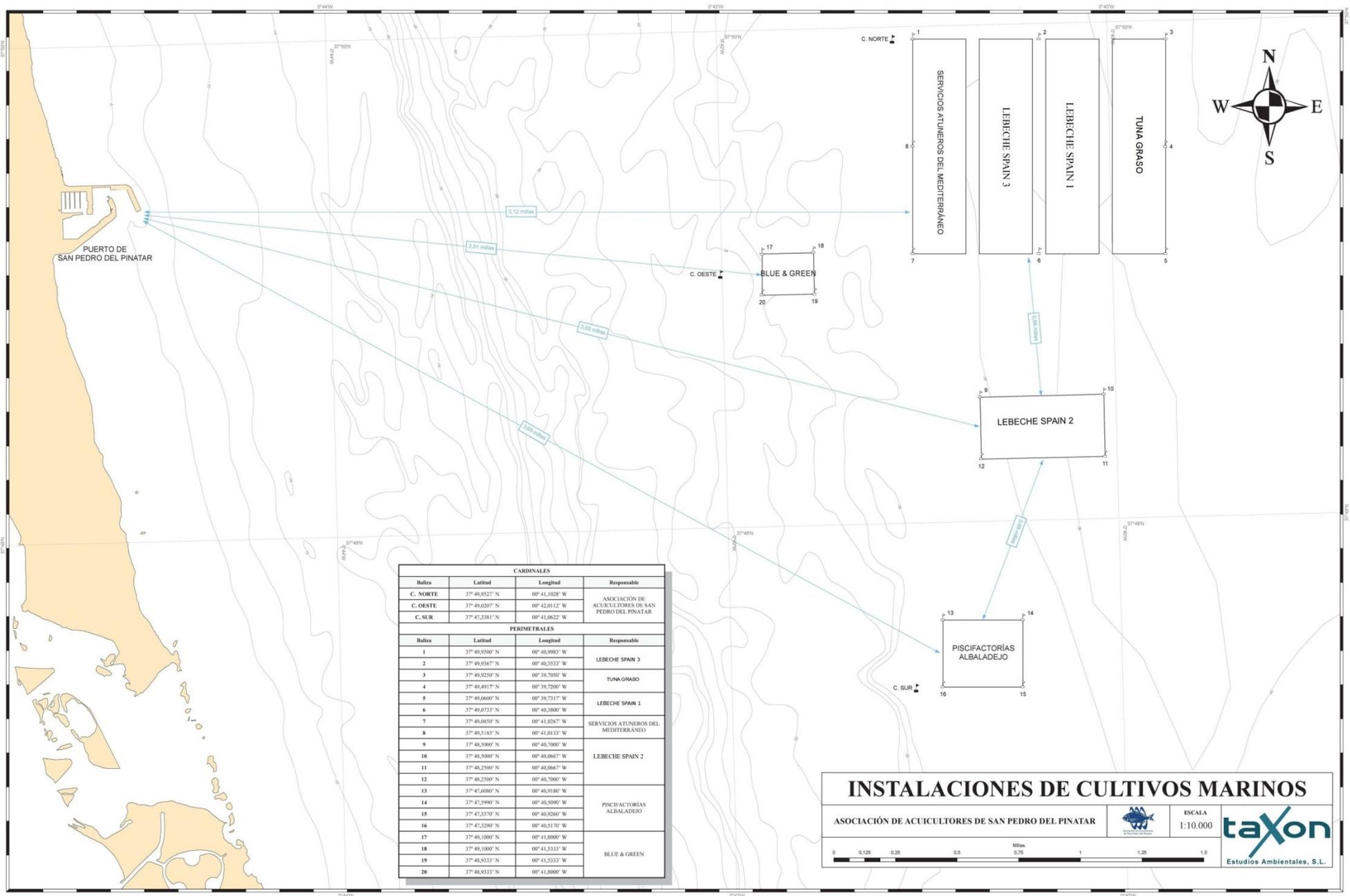
Picture 1. Floating cages installation in open Sea located in the San Pedro del Pinatar area. (Murcia, SE of España).

The biocenosis of coastal detritic bottoms is the one dominating the area where the 7 aquaculture facilities are located. These detrital bottoms extend from the lower limit of the *Posidonia Oceanica* meadow, situated between 26 and 31 meters depth. In these depths the sediments have an important biogenic component and the percentage of mud content is very low, as corresponds with an area where the hydrodynamic is usually high. That's way it can be considered as non-mudded detrital sediments that hold a rich and diverse infaunal community dominated by mollusks and polychaetes.

Towards the north and towards the coast the sediments become finer as result of the terrestrial contributions, catalogued as muddy coastal detrital that has an infaunal community slightly less developed. The muddy coastal detrital bursts into the coastal detrital forming tongues, so that, at the border the two communities intercalate.

Along the entire area the alignments of rocky nature outgrow forming abrupt slopes locally named "barras" as result of the concretion of sandy alignments formed by sedimentation following the mainstream, subsidence processes and sea level rise.

In the north of Cabo de Palos we find the most extensive and wide *Posidonia Oceanica* meadow. Beside the one of Calblanque, it is the largest on the Murcian coast, with an area approximately of 5,000 hectares. It extends from Cabo de Palos to just beyond the province of Alicante, from where it continues toward Guardamar where the influence of the Segura River makes it disappear. The main determinant factor of the wide distribution of the *Posidonia Oceanica* meadow in this area is the width of its continental shelf (ranging from 15, 5 km in Cabo de Palos to 31 km in the provincial boundary) and, therefore, its soft slopes (< 3%). The meadow that covers from the Levante of Cabo de Palos beach till the Mojón Beach, in addition to the extension it is characterized by its high degree of structural development (biomass and cover) and also by its lower limit that reaches a great depth (approximately 31m).



3. MATERIAL AND METHODS

1.1. SAMPLING CHRONOLOGY

During the months of September and October, samples of the slaughtered bluefin tuna for the “fresh” and “frozen” market were collected. In the table below the type of samples collected and its sampling dates can be consulted.

Sampling dates	Sampling type	Market type	Number of fish sampled
4/10/17	Biometry, spine , muscle, sex	Frozen	31
5/10/17	Extraction of otoliths		14
6/10/17	Extraction of otoliths		14
17/10/17	Biometry, spine , muscle, sex	Frozen	42
18/10/17	Extraction of otoliths		20
19/11/17	Extraction of otoliths		22
30/10/17	Biometry, spine , muscle, sex	Frozen	40
31/10/17	Extraction of otoliths		20
02/11/17	Extraction of otoliths		20
22/11/17	Biometry, spine , muscle, sex	Frozen	55
23/11/17	Extraction of otoliths		25
24/11/17	Extraction of otoliths		30
24/11/17	Biometry, spine , muscle, sex	Frozen	56
27/11/17	Extraction of otoliths		30
28/11/17	Extraction of otoliths		26
			Total number of samples 224

The total number of samples finally was 224. In principle it would be 150.

1.2. METODOLOGY

A TAXON boat was used to reach the sampling area and access to TG working vessels. Prior to start the maneuvers, TAXON staff distributed the sampling material over the ship deck.

The sampling and data recording protocols followed where those established by ICCT/GBYP. Samples were labeled conveniently following the indications of ICCAT/GBYP protocols, so its traceability was ensured at all times. The introduction of data to the database provided by ICCAT/GBYP was performed according to the indications and protocols provided by ICCAT.

The last step was the conservation of the samples and their transport to the institution determined by ICCAT/GBYP, in this case AZTI.

Sampling materials and preservatives were those determined by the protocols provided by ICCAT/GBYP.



Picture 2. Taxon boat in the right of the picture and in the left, the maneuvering vessel “Dolfjin” of support and surveillance work. At the bottom of the image the el “Paloma Reefer”, the freezer ship.

Taxon stuff carried out the sampling in order to obtain information about:

- **Fork length** (SFL), measured in cm with a stainless steel caliber with total length of 317cm.



Picture 3. Measured sampling with caliber in the freezer vessel.

- **Total weight**, in kg



Picture 4. Weighing of a specimen on the deck of the freezer vessel.

- **spine extraction**



Picture 5. Spine extraction on the deck of the freezer vessel.



Picture 6. Preparation of dorsal spine in the laboratory for further analysis and treatment

- **sex identification**



Picture 7. Collection of viscera and gonads for “visu” sexing of buefin tuna specimens.

- Sampling **tissue for genetic studies** on the deck of a maneuvering vessel.



Picture 8. Sampling process on the deck of the maneuvering vessel.

- **Otoliths sampling**



Picture 9. Extraction of otoliths,

In order to the otoliths extraction, the tuna fish head are transported to the San Pedro del Pinatar Port and after that to the TG facilities in La Palma (Cartagena).



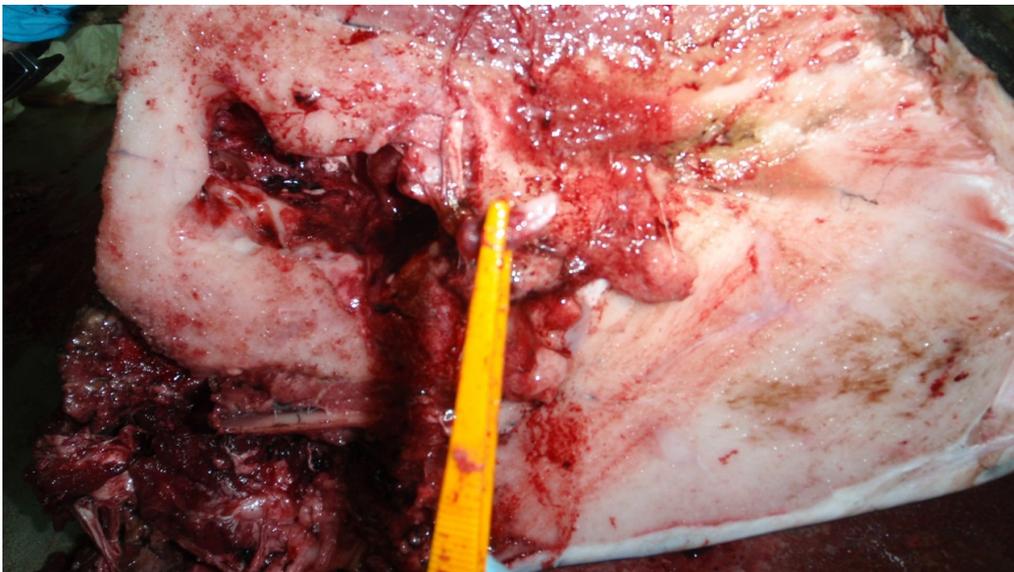
Picture 10. Otoliths extraction in the white room of TG,



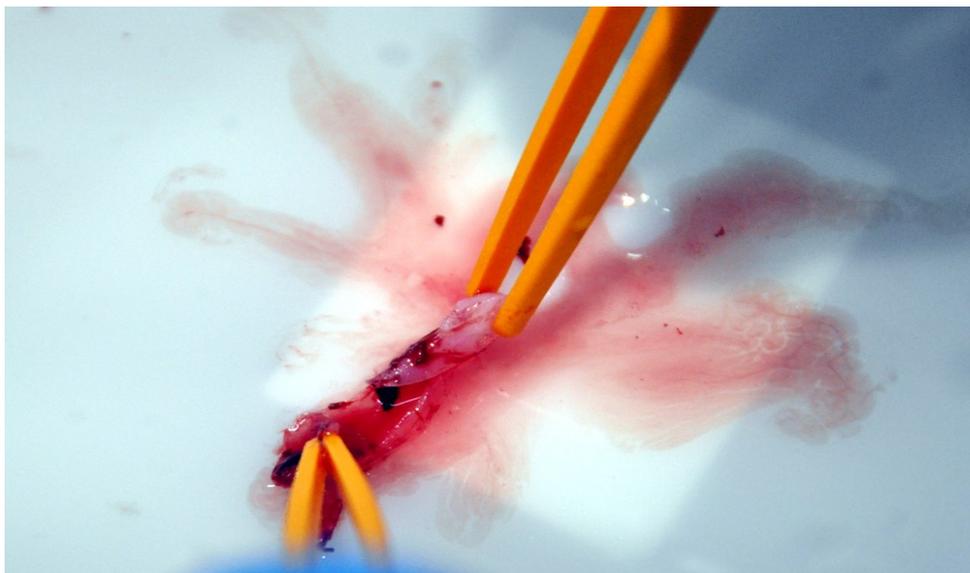
Picture 11. Extraction of otoliths



Picture 12. Sampling in the white room of TG.



Picture 13. Otolith extraction following the ICCAT/GBYP protocol.



Picture 14. Separation of the otolithic membrane from the otolith before it is washed with deionized water and subsequent immersion in 0.1 %nitric acid for 5´ according to methodology recommended for Rocker *et al.* (2008)



Picture 15. Preparation of samples

2. RESULTS

A total of 224 tunas were sampled. Length, weight, otoliths, sex, gonads, dorsal spine and muscle data were obtained from this sampling with the distribution detailed below:

- The maximum weight of the 224 sampled specimens was 367 kg, the minimum 168 kg, and the average 264,35 kg.
- The maximum length was 259 cm, the minimum 149 cm, and the average 217,39 cm.

- Of the 224 specimens, 197 otoliths samples were obtained. 12 were lost because of a bad management and in 15 specimens there were no otoliths found due to the destruction of the cranial cavity caused by the chainsaw (lupara) projectile
- Of the 224 specimens sampled, 158 were sexed. 85 of them were males and 73 females.
- 158 gonads were collected, with a maximum weight of 1.826,74 gr, and an average of 673,14 gr
- The spine and muscle biologic samples were collected from all the specimens.

All these data were entered into the data table (spreadsheet) attached in this report (GBYP data form_2017_TAXON.xlsx), using the model offered by the ICCAT/GBYP Secretariat.

3. DIFFICULTIES

3.1. SAMPLING CONSTRAINTS RELATED WITH THE METEOROLOGICAL CONDITIONS.

As in previous years, cage operators and sampling equipment are limited in their ability to plan each day sea sample collection during slaughter maneuvers due to the abrupt directional and intensity current changes in the anchorage cages area. This parameter is difficult to know a priori with the existing systems of maritime weather forecasting. Despite of this, only once in 2017 the “slaughter” was cancelled for this circumstance impeding the sampling process although the vessels and operator even were in the sea.

3.2. CONSTRAINTS ON OBTAINING COMPLETE AND QUALITY OTOLITHS

Obtaining complete and quality otoliths, as the last year continue being complicated due to the slaughtering method, the chainsaw, a metallic pole of approximately 2 m length in which has a cartridge with a bullet at its end. This cartridge is fired on the head of the tuna when the end of the pole is pressed. This method allows an instantaneous death of the specimen due to its direct effect on the brain. That implies tissue destruction when the bullet penetrates on the cranial cavity. As a collateral effect, most of the times the otoliths are also damaged.



Picture 16. Chainsaw (Lupara). *Origin: Google images*



Picture 17. Head smashed due to the impact of the bullet in the cranial cavity.

3.3. CONSTRAINTS ON OPERATING ON THE DECK OF THE VESSEL.

The lack of stability caused by cleaning water, tuna blood and fat difficult notably the operation capacities.

Weighing tunas is one of the constraints found in this sampling process. Many times more than one specimen is weight each time and that difficult the head choosing of the best specimens for the otoliths sampling. This weight process also difficult the gonad sampling due to the number of specimens sampling each time. Also obtain the biometry is difficult because of to the bulky steel caliber used, which is greater than 3 m length and need to be handled by the crew on a not very broad deck and where sharp tools, grapples, mechanical chainsaws, etc, are used.



Picture 18. Red tuna weighing process on the freezer vessel deck “Paloma Reefer” in the presence of the SG fishing responsible, the operator (Tuna Graso) and the vessel crew.



Picture 19. Working conditions (water, fat, blood, viscera, knives, etc.) during the collection of viscera and gonads to sex the specimens.

3.4. CONSTRAINTS ON MAKING THE MOST OF RESOURCES.

The otolith extraction was made, as the last year, in the white room of Tuna Graso, located in La Palma (Cartagena). Samples were transported in a refrigerated truck, being diverted in some occasion to the waste manager and losing in this case all the sampling effort.



Picture 20. Freezer vessel “Paloma Reefer” next to the maneuver vessel, the “Caladeros Tres”.

3.5. CONSTRAINTS ON SAMPLING TUNAS FOR FROZEN MARKET.

The slaughtering maneuver for these specimens is different to the one for those destined for fresh market. When tuna is destined to frozen market, 30 to 50 specimens are slaughtered in a single maneuver, so they arrive to the freezer vessel in one go therefore all specimens must be processed (carving-cut into pieces) as fast as possible to introduce the tuna loin in the freezing tunnel at -60°C . The situation gets worse owning the difficulty of working on the deck of a vessel with a layer of blood, fat and water running on it, making it a slippery surface that makes movements difficult and dangerous so the chance of falling to the ground increases. In addition, the deck is very crowded, there were up to five groups of crew members working on board. Besides, the staff that process the tuna were provided with sharp and pointed tools (knives, hooks, chainsaw, etc.), which implied an added danger to the situation.

In summary, the complexity degree in the sampling process of specimens destined to the frozen market with respect to the ones destined to the fresh market increase due to the large number of specimens slaughtered on each maneuver.



Picture 21. Specimens slaughtered before being taken into the “ Paloma Reefer”.



Picture 22. Tuna carving and cutting into pieces process on the deck of the freezer vessel “Paloma Reefer” before its freezing

Alcantarilla, January 30th, 2018



A handwritten signature in blue ink, appearing to be "A. Belmonte Ríos", written over a horizontal line.

Fdo. Antonio Belmonte Ríos

Biólogo Coleg. 9744-MU