



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**VARIACIÓN EN LA DIETA DE LOS  
CACHALOTES DEL GOLFO DE CALIFORNIA  
CON BASE EN ISÓTOPOS ESTABLES DE  
CARBONO Y NITRÓGENO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**EN**

**MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA**

**FABIOLA JANETTE GUERRERO DE LA ROSA**

**LA PAZ, B.C.S., OCTUBRE DE 2008**



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**ACTA DE REVISION DE TESIS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 12 del mes de Septiembre del 2008 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"VARIACIÓN EN LA DIETA DE LOS CACHALOTES DEL GOLFO DE CALIFORNIA  
CON BASE EN ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO Y NITRÓGENO"

Presentada por el alumno:

**GUERRERO**  
Apellido paterno

**DE LA ROSA**  
materno

**FABIOLA JANETTE**  
nombre(s)

Con registro: 

A	0	6	0	2	6	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISION REVISORA**

Director de tesis  
PRIMER VOCAL

\_\_\_\_\_  
DRA. DIANE GENDRON LANIEL

PRESIDENTE

\_\_\_\_\_  
DR. DAVID AURIÓLES GAMBOA

SECRETARIO

\_\_\_\_\_  
DR. SÉRGIO AGUÍÑIGA GARCÍA

SEGUNDO VOCAL

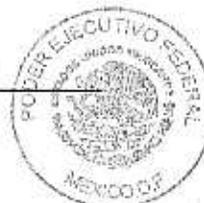
\_\_\_\_\_  
DR. CASIMIRO QUIÑONEZ VELÁZQUEZ

TERCER VOCAL

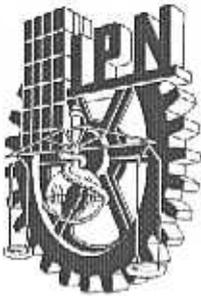
\_\_\_\_\_  
DRA. NATHALIE JAQUET

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

\_\_\_\_\_  
DR. RAFAEL CERVANTES QUARTE



IPN  
CICIMAR  
DIRECCION



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 23 del mes Septiembre del año 2008, el (la) que suscribe FABIOLA JANETTE GUERRERO DE LA ROSA alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro A060263 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DRA. DIANE GENDRON LANIEL y cede los derechos del trabajo titulado: "VARIACIÓN EN LA DIETA DE LOS CACHALOTES DEL GOLFO DE CALIFORNIA CON BASE EN ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO Y NITRÓGENO" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: monodon\_leucas@yahoo.com dgendron@ipn.mx  
Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

*Fabiola Guerrero*

FABIOLA JANETTE GUERRERO DE LA ROSA  
*nombre y firma*

La sacralización de la inteligencia nos ha empujado al borde del precipicio, y el logos, una vez que hubo dominado el mundo, en vano pretendió responder a lo que sólo se sostiene como enigma o como llanto. Hemos llegado a la ignorancia a través de la razón.

Ernesto Sabato

## DEDICATORIA

A mi familia:

Arcelia y Manuel

Paola, Yesenia, Ángel, Pedro y Manuel

Una combinación explosiva que puede dar como resultados un caos o una pintura bellísima con miles de matices y sorpresas. Siempre he sentido su apoyo y amor a pesar de la distancia.

A Manuelita piel canela que sigue siendo un icono de fortaleza, rebeldía e irreverencia con tu pilar Luciano siempre a tu lado.

A mi familia de La Paz

Victoria Medellín Anaya y Nadiezhda Cantú Medellín

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas por aceptarme en su programa de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI), Beca Institucional de Posgrado del Instituto Politécnico Nacional, American Cetacean Society de Monterey Bay y a la Cetacean Society International por el apoyo económico otorgado para la realización de éste trabajo.

A la Dra. Diane Gendron por ser una excelente guía y referencia en el complicado mundo de la investigación de los cetáceos, estoy sumamente orgullosa de formar parte del laboratorio que diriges (mucho se agrade la presentación Lidu). Mil gracias por ofrecerme tu apoyo y confianza en todo momento, compartir tu experiencia, escuchar y discutir ideas de manera paciente y sobre todo por alentarme a seguir conociendo a estos magníficos animales. Sigue creciendo la deuda de botellas de vino.

A la Dra. Nathalie Jaquet quien siempre ha estado al pendiente de mi trabajo a pesar de la distancia y las complicaciones que pueda generar el idioma, por su disposición para responder cualquier duda de los cachalotes. Sus críticas y excelentes comentarios han hecho que este trabajo se fortalezca.

Al Dr. Sergio Aguíñiga, Dr. David Auriolos Gamboa, M en C Gustavo De la Cruz Agüero y el Dr. Casimiro Quiñones Velázquez por sus revisiones, atinados comentarios y la aportación de ideas interesantes que ayudaron a pulir el trabajo

A todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología de Mamíferos Marinos de CICIMAR (Geraldine, Azucena, Natalia, Christian, Raúl, Mario, Agnes, Cristina, Laura, Aurora...) por su disposición para ayudar en todo momento, compartir su

conocimiento, debatir ideas y hacer críticas constructivas, estas son cosas invaluableles.

A los capitanes de embarcaciones Ciro Arista y Javier Álvarez y al técnico Manuel Zamarrón, quienes con su camaradería hacen mucho más divertido e interesante el trabajo en el campo, gracias por compartir toda su experiencia en el mar, la pesca, la vida..., pero sobre todo por ofrecer una solución brillante a cualquier problema aun cuando no se cuente con todo el material o no se este en la mejores condiciones.

Dicen que uno no escoge a su familia...sin embargo, he tenido la gran fortuna de que una familia me haya escogido como miembro, no hay palabras que alcancen para agradecer todo el apoyo que he recibido de Victoria Medellín Anaya (la mamá postiza) y Nadiezhda Cantú Medellín (la hermanastra).

A Nadia y Ara por ofrecerme su amistad incondicionalmente, por ser un caleidoscopio que me permite ver la vida desde varias perspectivas con diferentes colores y formas. La liga de la justicia sobrevive y las aventuras continúan.

A Roman, Ismael e Iván ahora con muchos kilómetros de por medio, dios salve al messenger por facilitar la comunicación y la perpetuación de las amistades. Por la cantidad de platicas útiles, la discusión de temas súper interesantes, pero sobre todo por las platicas inútiles y la discusión de temas triviales que hacen más fáciles los días.

A todos los miembros de los diferentes clubes: Barbarita, Mauricio (de viajes y comida); Armando, Edgar, Emmanuel, Mauro (Presidente), Pablo y Roberto (el famosísimo Club de Toby con una serie de actividades que van desde acampadas, fiestas y comidas hasta misiones de rescate, etc., etc.); Chunga y Gaby (de baile); Nelly y oso (foro de discusión viajes y chelas incluidas). La característica principal de todos estos clubes es que ofrecen su amistad total a todos sus miembros lo cual se agradece de manera infinita.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>GLOSARIO</b> .....	<b>I</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>IV</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VIII</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>IV. OBJETIVO</b> .....	<b>7</b>
IV.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	7
<b>V. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>8</b>
V.1 ÁREA DE ESTUDIO .....	8
V. 2 TRABAJO DE CAMPO .....	10
V. 3 FOTO-IDENTIFICACIÓN.....	11
V. 4 PREPARACION DE MUESTRA PARA EL ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES .....	12
V. 5 ANÁLISIS DE LOS DATOS .....	13
<i>V.5.1 VARIACIÓN POR MÉTODO DE PRESERVACIÓN, PROTOCOLO DE EXTRACCION DE LIPIDOS Y/O TEJIDO</i> .....	13
<i>V. 5.2 HEMBRAS E INMADUROS</i> .....	15
V. 5.2.1 VARIACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL.....	15
V. 5.2.2 ESTRUCTURA SOCIAL.....	15
<i>V.5.3 COMPARACIÓN ENTRE HEMBRAS E INMADUROS Y MACHOS ADULTOS</i> .....	17
<i>V.5.4. COMPARACION CON RESULTADOS ANTERIORES</i> .....	17
V. 6 ANALISIS ESTADISTICOS .....	17
<b>VI. RESULTADOS</b> .....	<b>19</b>
VI. 1 VARIACIÓN POR MÉTODO DE PRESERVACIÓN, PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE LIPIDOS Y/O ENTRE TEJIDO.....	20
<i>VI.1.1 EFECTO DEL PRESERVADOR (DMSO VS CONGELADO)</i> .....	20
<i>VI.1.2 EFECTO DEL PROTOCOLO DE EXTRACCION DE LIPIDOS (MAE versus ULTRASONIDO)</i> .....	20
<i>VI.1.3 PIEL DESCAMADA VS PIEL DE BIOPSIAS</i> .....	22
<i>VI.1.4 CAPAS EPIDERMICAS</i> .....	22

VI.2 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE HEMBRAS E INMADUROS .....	23
VI.2.1 VARIACIÓN ENTRE ÁREAS .....	23
VI.2.2 VARIACIÓN INTERANUAL .....	25
VI.2.3 VARIACIÓN ENTRE TEMPORADA FRÍA Y CÁLIDA .....	27
VI.2.4 VARIACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES NIVELES DE LA ESTRUCTURA SOCIAL DEL CACHALOTE .....	28
VI.3 VARIACION DE LA SEÑAL ISOTÓPICA ENTRE HEMBRAS E INMADUROS vs MACHOS ADULTOS .....	31
VI.4 COMPARACIÓN CON ESTUDIOS ANTERIORES .....	32
<b>VII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>34</b>
VII. 1 VARIACIÓN EXTRÍNSECA .....	34
VII.1.1 EFECTO DEL PRESERVADOR (DMSO VS CONGELADO) .....	34
VII.1.2 EFECTO DEL PROTOCOLO DE EXTRACCION DE LIPIDOS (MAE versus ULTRASONIDO) .....	36
VII. 2 VARIACIÓN INTRÍNSECA: FUENTES DE VARIACION INDIVIDUAL (ENTRE PIEL DEL MISMO ANIMAL) Y ENTRE CAPAS EPIDERMICAS .....	38
VII.3 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA EN CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS PROVENIENTES DE DIFERENTES ÁREAS .....	39
VII.3.1 Alimentación de presas de diferentes niveles tróficos .....	39
VII.3.2 Provincias isotópicas en el Golfo de California .....	41
VII.3.3 Importancia de otras presas .....	42
VII.3.4 ¿Cuál factor explica mejor la variabilidad isotópica entre áreas? .....	43
VII.4 VARIACIÓN INTERANUAL DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS .....	44
VII.5 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS ENTRE TEMPORADA FRÍA Y CÁLIDA .....	46
VII.6 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA EN LOS DIFERENTES NIVELES DE LA ESTRUCTURA SOCIAL DEL CACHALOTE .....	47
VII.7 HEMBRAS E INMADUROS VS MACHOS ADULTOS .....	49
VII.8 COMPARACIÓN CON RESULTADOS ANTERIORES .....	51
<b>VIII. CONCLUSIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>IX. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>54</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>64</b>

## GLOSARIO

**Biopsia:** muestra de piel y grasa tomada con una flecha con punta modificada y flotador disparada desde una ballesta. En el caso del cachalote la biopsia puede ser tomada del dorso o de la aleta caudal.

**Clan vocal:** grupos de cachalotes con el mismo repertorio vocal (codas).

**Clúster:** animales que están juntos a una distancia de menos de un cuerpo y cuyos movimientos están coordinados.

**Codas:** secuencias cortas y estereotipadas de 3 a 40 clicks, que normalmente duran hasta 3 segundos. Las codas se escuchan principalmente en presencia de grupos de hembras e inmaduros durante la socialización. La función principal que se ha inferido sobre el uso de las codas es el de la comunicación entre los cachalotes.

**Cultura:** información adquirida de miembros de la misma especie a través de alguna forma de aprendizaje social lo cual origina que miembros de una población o sub-población presenten conductas similares.

**Dimetil sulfóxido (DMSO):** líquido orgánico que se obtiene como subproducto durante el procesamiento de pulpa de madera para la fabricación de papel, es utilizado en la preservación de tejidos para análisis genéticos.

**Enriquecimiento isotópico:** término utilizado para describir la cantidad de  $^{13}\text{C}$  y / o  $^{15}\text{N}$  con respecto a otra. En consecuencia, una sustancia enriquecida en  $^{13}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}$  estará disminuida isotópicamente en  $^{12}\text{C}$  y en  $^{14}\text{N}$  respectivamente.

**Grupo social:** animales que se mueven de manera coordinada por periodos que van de días a semanas, viajan y se alimentan juntos.

**Grupo de solteros:** conjunto de cachalotes machos inmaduros que viajan y se alimentan juntos.

**Fraccionamiento isotópico:** término utilizado para describir cambios en la señal isotópica entre la dieta y los tejidos del consumidor, reconociendo que este efecto se da tanto por una asimilación bioquímica selectiva de los componentes de la dieta con señales isotópicas diferentes así como por una discriminación isotópica.

**Isótopo:** los isótopos son átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferente masa atómica. Es decir, contienen el mismo número de protones ( $Z+$ ) y electrones ( $e-$ ) pero difieren en el número de neutrones ( $N$ ).

**Isótopos estables:** isótopos que no emiten partículas de desintegración de manera espontánea a través del tiempo.

**$\delta$  Delta:** notación adoptada para expresar diferencias relativas en las razones de isótopos estables entre una muestra y un estándar; se expresa en unidades de partes por mil (‰) (latín *per mille*).

**$\delta^{13}\text{C}$ :** diferencia expresada en partes por mil entre el contenido de  $^{13}\text{C}$  de una muestra con respecto al del estándar (Pee Dee Belemnite en el caso del carbono).

**$\delta^{15}\text{N}$ :** diferencia expresada en partes por mil entre el contenido de  $^{15}\text{N}$  de una muestra con respecto al del estándar (Nitrógeno atmosférico en el caso del nitrógeno).

**Liofilización:** eliminación del agua mediante desecación al vacío y a muy bajas temperaturas.

**Mesopelágico:** especie que vive y/o se alimenta en aguas abiertas a profundidades de entre 200 y 1000 metros, por debajo de la zona epipelágica y por encima de la batipelágica.

**Material orgánico particulado (MOP):** material orgánico cuyo diámetro sea mayor a  $0.2\mu\text{m}$  y menor a 1cm, se incluyen secreciones, exudados celulares, material fecal de organismos vivos, restos de fitoplancton y zooplancton y material detrítico parcialmente o totalmente degradado, entre otros.

**Nivel trófico:** posición relativa de un organismo dentro de la trama trófica; se refiere a la distancia existente entre un organismo determinado y la utilización directa de la energía solar.

**Odontoceto:** Los odontocetos son un suborden de cetáceos que se diferencian de los misticetos por poseer dentadura, un solo orificio nasal, un cráneo asimétrico y una frente abultada debido a la presencia del *melón*, órgano utilizado en la ecolocalización.

**Súper-agregaciones:** conjunto de varios grupos sociales distribuidos en un área de entre 9-72 km.

**Surgencia:** fenómeno oceanográfico que consiste en el movimiento vertical de las masas de agua, de niveles profundos hacia la superficie. Por lo general, las aguas profundas son ricas en nutrientes como nitratos y fosfatos, cuando son llevados a la superficie estos nutrientes son utilizados por el fitoplancton, incrementándose con esto la producción primaria del área.

**Teútofago:** organismo que se alimenta principalmente de calamares.

**Unidad social:** animales que permanecen y se mueven juntos por periodos que van de años a décadas.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Fig. 1.</b> El Golfo de California y subáreas: 1) Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas; 2) central; 3) sur.....	9
<b>Fig. 2.</b> Muestra de piel descamada de cachalote (a) y piel de biopsia (b) la cual se dividió en dos capas (c): una interna que esta en contacto con la grasa (1) y otra externa (2). .....	11
<b>Fig. 3.</b> Ejemplo del tipo de fotografía utilizadas en la identificación de los cachalotes y que se incluyen en catalogo de CICIMAR, con calidad Q=5. ....	11
<b>Fig. 4.</b> Lugares de recolecta de las muestras de cachalote (piel descamada y biopsias) durante el periodo 2000-2006. El cuadrado-azul corresponde a las muestras recolectadas en Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas ( $n = 52$ ), en triángulo-anaranjado las de la zona central ( $n = 104$ ) y en circulo-rosa las de la zona sur ( $n = 18$ ).....	19
<b>Fig. 5.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (en ‰) de las muestras analizadas siguiendo el protocolo de extracción lípidos MAE (estudio actual) y ultrasonido (Ruiz-Cooley et al., 2004). ....	21
<b>Fig. 6.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) de las muestras analizadas siguiendo el protocolo de extracción lípidos MAE (estudio actual) y ultrasonido (Ruiz-Cooley et al., 2004). ....	22
<b>Fig. 7.</b> Gradiente norte-sur en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de la piel de cachalotes del Golfo de California.....	23
<b>Fig. 8.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de piel de cachalotes hembra e inmaduros recolectadas en las tres zonas del Golfo de California.....	24
<b>Fig. 9.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de piel de cachalotes hembra e inmaduros recolectadas durante el período 2000-2005. ....	26
<b>Fig. 10.</b> Localidades en donde se recolectaron las muestras de piel de cachalotes hembra e inmaduros durante la temporada fría (circulo-azul) y cálida (triángulo-anaranjado) del año 2002. ....	27
<b>Fig. 11.</b> Lugares donde se recolectaron de las muestras de piel de los grupos de cachalotes hembra e inmaduros 1 (cuadrado-azul), 2 (triángulo-anaranjado), 5 (circulo-rosa) y 11 (cruz-verde). ....	28
<b>Fig. 12.</b> Valores de A) $\delta^{13}\text{C}$ y B) $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de la piel de los grupos de cachalotes 1, 2, 5, y 11.....	29
<b>Fig. 13.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de la piel descamada de los clanes. ....	30
<b>Fig. 14.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (media $\pm$ DE en ‰) de la piel de hembras e inmaduros y de machos adultos de cachalote recolectada en el Golfo de California.....	31
<b>Fig. 15.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) de la piel de hembras e inmaduros y de machos adultos de cachalote muestreados en el Golfo de California. ....	32
<b>Fig. 16.</b> Comparación de lo valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) del periodo de estudio y los machos adultos en la que se puede observar la similitud entre estos y los cachalotes del año 2000. ....	46

**Fig. 17.** Integración de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (en ‰) de grupos de cachalotes hembras e inmaduros del Golfo de California. (Datos de 1997-1999 tomados de Ruiz-Cooley *et al.*, 2004; Datos de 2000-2005 son del estudio actual; el año 2002 incluye las muestras analizadas por Díaz-Gamboa 2003). ..... 52

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Número de muestras de piel y biopsias de cachalotes en el periodo 2000-2006, además de las muestras re-analizadas del periodo 1996-1999. ....	20
<b>Tabla 2.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre las zonas del Golfo de California, mediante la prueba <i>a posteriori</i> de Tukey. *Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ ) de cada zona. ....	25
<b>Tabla 3.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el período 2000-2005, mediante la prueba <i>a posteriori</i> de Tukey. *Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ ) de cada año. ....	26
<b>Tabla 4.</b> Número de muestras de piel analizadas por grupo de cachalotes hembra e inmaduros. ....	28
<b>Tabla 5.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de los grupos de cachalotes 1, 2, 5, y 11, mediante la prueba <i>a posteriori</i> de Dunnet (valores de <i>p</i> ). *Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$ ) de cada grupo. ....	30
<b>Tabla 6.</b> Periodo de muestreo, áreas de colecta y número de muestras de cada uno de los estudios. Las áreas de colecta están en referencia a las zonas en que se dividió el Golfo de California en este estudio. ....	33
<b>Tabla 7.</b> Comparación de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de muestras de piel descamada y biopsias de cachalotes hembra e inmaduros y machos adultos del Golfo de California obtenidos en este estudio y los reportados en estudios previos. * Media y desviación estándar (DE) en ‰. ....	33
<b>Tabla 8.</b> Enriquecimiento de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los cachalotes de las zonas del Golfo de California con respecto a la señal isotópica de calamar gigante (Dg) de tallas medianas y grandes (datos de calamar tomados de Díaz-Gamboa, 2003) * Valores en ‰. ....	41
<b>Tabla 9.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de calamar gigante (Dg) de talla mediana y grande (Datos tomados de Díaz-Gamboa (2003)) y entre las áreas del Golfo de California (Datos tomados de Altabet <i>et al.</i> (1999)). * Valores en ‰. ....	44
<b>Tabla 10.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los grupos de cachalote distribuidos en el norte de Isla San José. * Media y desviación estándar (DE) en ‰. ....	45
<b>Tabla 11.</b> Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los grupos de hembras e inmaduros y machos adultos en el Pacífico. * Media y desviación estándar (DE) en ‰. ....	50

## RESUMEN

El cachalote (*Physeter macrocephalus*) es un depredador tope que se alimenta principalmente de cefalópodos meso y batipelágicos. En el Golfo de California la presa principal de cachalotes hembras e inmaduros es el calamar gigante (*Dosidicus gigas*), mientras que los cachalotes machos adultos presentan una dieta totalmente diferente. Actualmente, se desconoce si existen variaciones en la dieta del cachalote del Golfo de California como las registradas en otras áreas. Para evaluar esta posibilidad, se examina la dieta del cachalote en diferentes aéreas del Golfo de California, años, temporadas y niveles de la estructura social a través de las señales isotópicas de carbono y nitrógeno de 151 muestras de piel (la mayor parte provienen de individuos foto-identificados). Las muestras fueron recolectadas durante 2000-2005 incluyendo temporadas frías y cálidas en las áreas de San Pedro Mártir (SPM), centro y sur del Golfo de California. Se registró una gran variabilidad en las señales isotópicas de C y N en cachalotes hembras e inmaduros ( $\delta^{13}\text{C} = -17.67$  a  $-13.83$  ‰ y  $\delta^{15}\text{N} = 16.03$  a  $22.58$  ‰). Los cachalotes en el área de SPM mostraron valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  que en otras áreas ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, sólo el año 2000 mostró diferencias significativas en  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $p < 0.05$ ), mientras que entre temporadas los valores fueron similares. Se encontraron diferencias significativas en  $\delta^{13}\text{C}$  entre los cuatro grupos sociales de cachalotes, dos de ellos presentaron valores de  $\delta^{15}\text{N}$  significativamente más altos que los otros. La gran variabilidad en las señales isotópicas de C y N registrada en cachalotes hembras e inmaduros refleja la complejidad en la ecología trófica del Golfo de California, contrastando con estudios previos. El mayor enriquecimiento de las proporciones isotópicas registradas en los cachalotes de SPM en ambas temporadas probablemente refleje el consumo de calamares mas grandes, diferentes especies de calamar o calamares consumidos en un área con un alto enriquecimiento en la señal isotópica de C y N. Finalmente, la diferenciación en la señal isotópica entre grupos sociales sugiere que la estructura social puede influir en los hábitos alimentarios y a su vez podría regular la distribución de los cachalotes en el Golfo de California.

## ABSTRACT

The sperm whale (*Physeter macrocephalus*) is a top predator that feed mainly on pelagic cephalopods. In the Gulf of California, its principal prey is believed to be the jumbo squid (*Dosidicus gigas*); however, the diet variation remains unclear. Here we examined diet variation across areas of the Gulf of California, year, season, and social structure by comparing carbon and nitrogen isotope ratios in 151 skin samples from photo-identified individuals. The samples were collected during 2000-2005 including cold and warm seasons and San Pedro Martir area (SPM), central and southern Gulf of California. We found a large variation in C and N isotopic signal in females and immature sperm whales ( $\delta^{13}\text{C} = -17.67$  to  $-13.83$  ‰ and  $\delta^{15}\text{N} = 16.03$  to  $22.58$  ‰). Sperm whales' skin samples from the SPM area showed higher  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values than those collected in other areas ( $p < 0.05$ ). Time wise, only the year 2000 exhibited significant differences in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  ( $p < 0.05$ ), whereas no significant differences were found between seasons. We also found significant differences in  $\delta^{13}\text{C}$  among the four groups of sperm whale analyzed and two groups had also significantly higher  $\delta^{15}\text{N}$  values than the other two. The high variability in C and N isotope ratios found in female and immature sperm whales from the Gulf of California reflects the complexity in their trophic ecology, contrasting with previous information. The higher enrichment of the isotopic ratios recorded in SPM area in both seasons probably reflects the consumption of larger *D. gigas* or different squid species or squids consumed in an area with high enrichment in the isotopic signals of C and N than in the rest of the Gulf of California. Finally, the differentiation in the isotopic signals among social groups suggests that the social structure may influence feeding habits which in turn may regulate the distribution of sperm whales in the Gulf of California.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde el siglo XIX, las aguas de Baja California fueron consideradas como área de captura de cachalotes, *Physeter macrocephalus* (Townsend, 1935); actualmente se observan en el Golfo de California durante todo el año (Gendron, 2000). Es una de las especies de cetáceos más abundantes en el Golfo de California, su población se estima en más de 1000 individuos (Jaquet y Gendron, 2002), y en la actualidad, ésta área representa un sitio importante de alimentación, reproducción y crianza (Jaquet *et al.*, 2003).

Se han detectado zonas con súper-agregaciones de cachalotes alrededor de la Isla San Pedro Mártir, la depresión de Guaymas y la depresión de Farallón (Jaquet y Gendron, 2002; Fig. 1). Estas zonas se relacionan con una alta biomasa del calamar gigante *Dosidicus gigas* (85,513 - 118,170 t; Nevárez-Martínez *et al.*, 2000). Por consiguiente, la presencia de los cachalotes en el golfo está probablemente asociada a la gran abundancia de calamar gigante durante todo el año en la parte central del Golfo. Por lo tanto, este sitio representa un lugar ideal para estudiar la relación alimenticia entre ambas especies.

Ruiz-Cooley *et al.* (2004), con base en isótopos estables de C y N, sugieren que en el Golfo de California, la presa principal de los grupos de hembras e inmaduros de cachalotes es el calamar gigante de tallas grandes (LM 38-83.5 cm), mientras que los machos presentan una señal isotópica totalmente diferente que probablemente refleje el alimento que consumen en altas latitudes o en otro ecosistema. Estos resultados se obtuvieron a partir de un reducido número de muestras ( $n = 41$ ) provenientes de la parte central del Golfo, por lo que en realidad se desconoce si existe una variación en la señal isotópica de los cachalotes en otras áreas, en diferentes años o temporadas así como en otro tipo de escala.

En el Pacífico Sur, Smith y Whitehead (2000) mediante el análisis de heces y Marcoux *et al.* (2007) con base en isótopos estables de C y N en piel descamada, sugieren al calamar *Histioteuthis sp* como presa potencial de los grupos de hembras

e inmaduros. Estos últimos autores, encuentran una variación en la señal isotópica entre años y áreas de estudio (Galápagos, Chile, Perú y el Pacífico Sur Occidental). Además, hacen énfasis en la variación registrada a nivel de estructura social, donde diferentes grupos al igual que diferentes clanes vocales (grupos de cachalotes que comparten el mismo repertorio de codas) presentan señales isotópicas distintas, sugiriendo de esta manera que la variación de la señal isotópica entre clanes podría reflejar una diferenciación cultural de las estrategias de alimentación de los cachalotes (Marcoux *et al.*, 2007).

Investigaciones recientes acerca de la frecuencia y tipos de marcas en aletas caudales (Zavala-Hernández *et al.*, 2004; Guerrero-de la Rosa, 2006), muestran que varios grupos de cachalotes hacen uso del Golfo de California y por las recapturas encontradas con cachalotes de Galápagos (Jaquet *et al.*, 2003), se infiere que existe un cambio constante de grupos. Álvarez-Torres (2006) menciona que estos grupos pertenecen al menos a tres clanes vocales, pero se desconoce si al igual que en el Pacífico Sur, existen diferencias culturales entre los grupos y clanes que podrían reflejarse en sus dietas.

Por lo que en este estudio se pretende analizar la variabilidad de la dieta de los cachalotes del Golfo de California en diferentes escalas (espacial, interanual y estacional) y en diferentes niveles de la estructura social (grupos y clanes) mediante el análisis de los isótopos estables de C y N.

## II. ANTECEDENTES

El cachalote es el más grande de los odontocetos y presenta un dimorfismo sexual muy marcado, las hembras miden 11 m mientras que los machos pueden llegar a los 18 m (Rice, 1989). Es considerada una especie cosmopolita; presenta una segregación sexual donde las hembras e inmaduros prefieren aguas tropicales a templadas (40°N y 40°S) mientras que los machos adultos se distribuyen en altas latitudes (60°N y 65°S) (Rice, 1989) por un tiempo aun desconocido (Whitehead 2003). Las hembras e inmaduros tienen una estructura social muy compleja, donde dos o más unidades sociales pueden formar grupos temporales para alimentarse y desplazarse y éstos a su vez, pueden pertenecer a un mismo clan vocal si presentan un repertorio de codas similar (Whitehead y Weilgart, 2000; Rendell y Whitehead, 2003). Los machos inmaduros forman pequeñas agregaciones de machos denominados “grupos de solteros” cuando se separan de los grupos de hembras e inmaduros, al migrar hacia altas latitudes estos grupos de solteros se van reduciendo y por lo general los machos adultos son solitarios (Lettevall *et al.*, 2002).

En cuanto a su dieta, los cachalotes son considerados una especie macroteutófaga mesopelágica que se encuentra en los niveles tróficos más altos dentro de su hábitat (Kawakami, 1980; Pauly *et al.*, 1998; Whitehead, 2002). Sus presas principales son calamares que pertenecen a las familias Ommastrephidae, Onychoteuthidae, Gonatidae, Pholidoteuthidae, Octopoteuthidae, Histioteuthidae y Cranchiidae (Clarke, 1980; Kawakami, 1980; Clarke *et al.*, 1993; Clarke 1996). Principalmente los machos adultos, también incluyen en su dieta especies de peces demersales y mesopelágicos (Flinn *et al.*, 2002). La composición de su dieta varía según el área oceánica, estación del año, madurez, sexo y tamaño del cuerpo (Kawakami, 1980; Clarke *et al.*, 1993; Mendes *et al.*, 2007a).

En el Golfo de California se sugirió que la presa principal de las hembras e inmaduros es el calamar gigante (Ruiz-Cooley *et al.*, 2004), al igual que en el Pacífico Sureste, donde incluso se pensó que el cachalote podría tener una dieta monoespecífica, ya que se encontró que el 99 % de los restos alimenticios

pertenecían a esta especie de calamar (Clarke *et al.*, 1988). Sin embargo, Smith y Whitehead (2000) y Marcoux *et al.* (2007), revelan que al menos para el Pacífico Sureste y durante su tiempo de estudio (1989-2000), el calamar *Histioteuthis sp.* sería la presa principal, coincidiendo con Clarke (1976) quien destaca la importancia de esta especie en la dieta de los cachalotes de Perú y Chile. Esto hace pensar que la dieta del cachalote varía dependiendo de la abundancia y composición de sus presas potenciales en el área como sucede en otros sitios (Kawakami, 1980), por lo que la especie es considerada como oportunista (Whitehead 2003).

Debido a las dificultades de estudio asociadas a su hábitat oceánico y los métodos de muestreo, la mayoría de los estudios de alimentación en cachalotes se basan en análisis de contenidos estomacales de individuos cazados o varados y en el análisis de muestras fecales (Clarke, 1976; Clarke, 1980; Clarke *et al.*, 1988; Smith y Whitehead, 2000). Sin embargo, en la actualidad los isótopos estables de C y N son una nueva herramienta para inferir, no únicamente acerca de la alimentación de diversas especies de animales si no también en aspectos de migración, estructura trófica, cambios de nicho, etc. (Hobson, 1999; Kelly, 2000; Post, 2002, 2003; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004; Busquets-Vass, 2008). Mientras que los estudios de contenido estomacal y las muestras de heces fecales nos aportan información acerca de las presas consumidas recientemente, los isótopos estables nos permiten inferir acerca del alimento consumido y asimilado en un periodo mas prolongado de acuerdo a la tasa de regeneración del tejido utilizado (Hobson *et al.*, 1994; Kelly, 2000).

La técnica de isótopos estables supone que la composición isotópica de un organismo esta dada por su dieta (DeNiro y Epstein, 1978; 1981). Debido a la acumulación del isótopo estable más pesado ( $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ ) y la excreción diferencial del más ligero ( $^{12}\text{C}$  y  $^{14}\text{N}$ ) por parte del organismo, se da un enriquecimiento en la razón isotópica del depredador con respecto a su presa. Este enriquecimiento entre cada nivel trófico se estima en un incremento aproximado de 1 ‰ para el  $\delta^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ ) y de 3-5 ‰ para el  $\delta^{15}\text{N}$  ( $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ ) (DeNiro y Epstein, 1981; Minawa y Wada, 1984; Peterson y Fry, 1987; Post, 2002). El  $\delta^{13}\text{C}$  es utilizado para indicar la contribución

relativa de diferentes fuentes de producción primaria, de esta forma se puede diferenciar entre ambientes costeros o bentónicos (valores altos de  $\delta^{13}\text{C}$ ) de aquellos oceánicos o pelágicos (valores bajos de  $\delta^{13}\text{C}$ ). Mientras que el  $\delta^{15}\text{N}$  es un indicador de la posición trófica, de esta forma los organismos que se alimentan de niveles tróficos más altos (carnívoros) tendrán valores de  $\delta^{15}\text{N}$  superiores a los de organismos que se alimentan de niveles tróficos inferiores (herbívoros). Así, el uso de ambos isótopos permite conocer la posición trófica relativa de una especie y del posible hábitat que ocupa (Rau *et al.*, 1992; Post, 2002).

### III. JUSTIFICACIÓN

Los depredadores tope son indicadores clave del nivel de productividad y el estado de los ecosistemas. El conocimiento de su función dentro de la red trófica, incluyendo el grado de variación interanual en su dieta es esencial para entender su interacción con el medio ambiente. Hasta el año de 1985 el cachalote fue objeto de caza comercial (IWC, 2008). En la actualidad es una especie protegida y se encuentra dentro de la lista roja de la IUCN con el status de especie vulnerable (IUCN, 2007). En los últimos 15 años el Golfo de California se ha identificado como un área de gran relevancia para la especie, siendo el sitio donde se tiene el mayor número de crías y machos sexualmente maduros registrados en el mundo; además, que ahí se observan actividades de alimentación, reproducción y crianza de parte de la especie. Actualmente, la idea de la importancia de la cultura en esta especie ha cobrado gran relevancia, en el sentido de que las variaciones culturales en la conducta de alimentación entre clanes podrían representar diferencias en la capacidad de respuesta ante cambios en el ecosistema, lo que a su vez afectaría de forma diferencial su supervivencia y su éxito reproductivo (Marcoux *et al.*, 2007) En el Golfo de California se sabe que los cachalotes se alimentan principalmente del calamar gigante; sin embargo, se desconoce si la dieta varía y a que escala. Un primer paso es analizar como varía la dieta de los cachalotes espacio-temporalmente y entre los diferentes niveles de la estructura social.

#### **IV. OBJETIVO**

Determinar si existe una variación en la dieta de los cachalotes del Golfo de California con base en isótopos estables de carbono y nitrógeno.

##### **IV.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

Conocer si existen variaciones en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de animales muestreados entre:

- Diferentes áreas del Golfo de California.
- Entre los años del periodo 2000-2005 y entre la temporada fría y cálida de año 2002.
- Entre los diferentes niveles de organización social de los cachalotes.

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

### V.1 ÁREA DE ESTUDIO

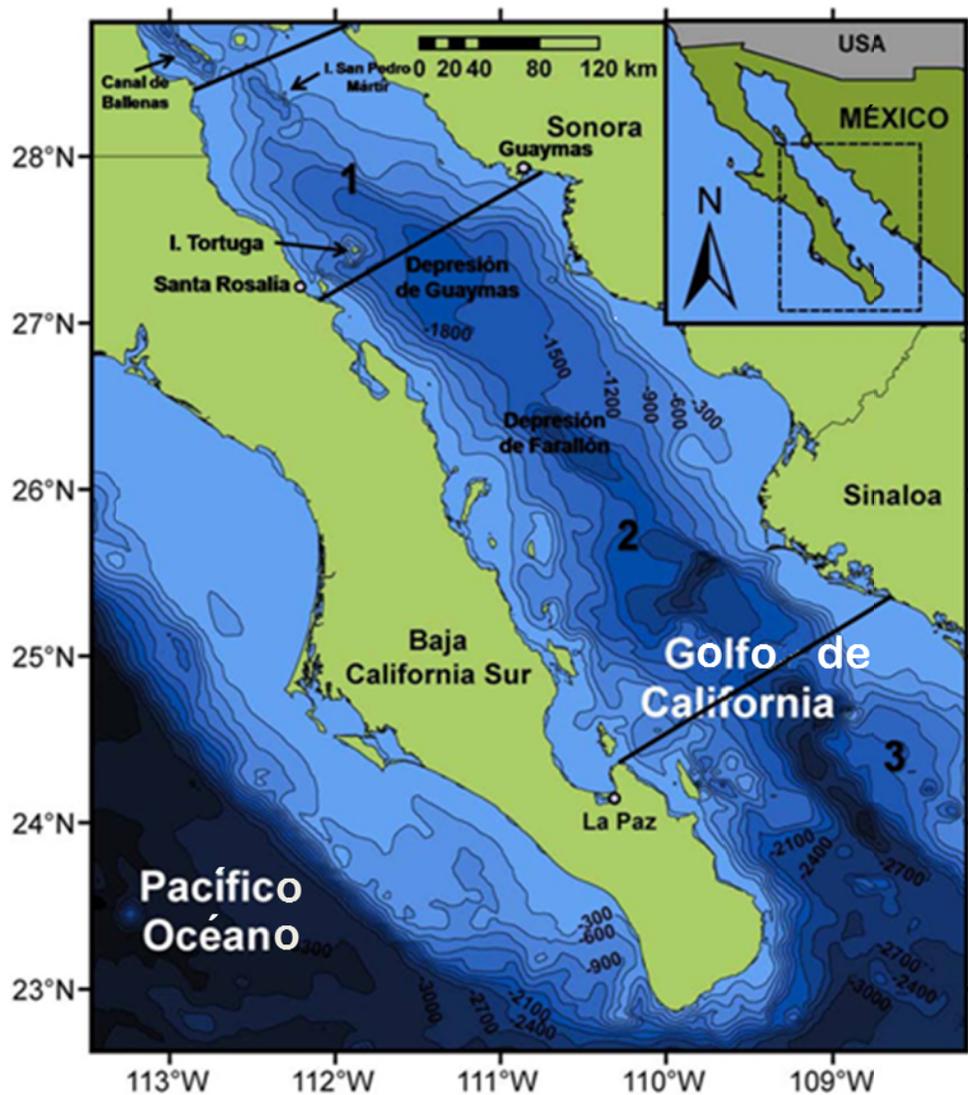
El Golfo de California es un mar adjunto al Océano Pacífico (Fig. 1). Está bordeado por la Península de Baja California en el oeste y los estados de Sonora y Sinaloa en el este. Tiene una longitud aproximada de 1,000 km y en promedio 150 km de ancho, con una superficie total aproximada de 210,000 km<sup>2</sup> (Roden, 1964).

Topográficamente está dividido en una serie de cuencas y trincheras, que se vuelven mas profundas hacia el sur. La mayoría de las cuencas están en comunicación abierta con el océano, con excepción del Canal de Ballenas (Roden, 1964; Álvarez-Borrego, 1983). La máxima profundidad se encuentra en la desembocadura y es mayor a los 3000 m. En contraste, la profundidad media en el norte de Golfo de California es menor a los 200 m.

De acuerdo con Roden (1964), el volumen de agua en y cerca del Golfo de California es parecido al del Pacífico Ecuatorial, modificado por la evaporación superficial y por la mezcla con las agua de la Corriente de California. La temperatura superficial se encuentra entre los 14 °C y 21 °C en febrero, y entre 20 °C y 28 °C en agosto. Los vientos son extremadamente variables, prevaleciendo los del noroeste de noviembre a mayo y del sureste el resto del año (Santamaría-del Ángel *et al.*, 1994).

Las aguas del Golfo de California son consideradas como subtropicales y presentan una productividad primaria relativamente alta, sobre todo en algunos puntos donde se localizan surgencias estacionales o durante todo el año (Álvarez-Borrego, 1983). Las surgencias que se presentan son generadas por dos mecanismos de enriquecimiento: las generadas por corrientes de mareas y las costeras generadas por viento. Las primeras ocurren principalmente en la región de las Grandes Islas, donde los procesos de mezcla por mareas se intensifican por una disminución batimétrica, produciendo corrientes intensas, especialmente en el Canal

de Ballenas (Badán-Dangón *et al.*, 1985). El segundo mecanismo se presenta en ambas costas del Golfo de manera alternada durante el año; en la costa este ocurren durante el invierno generadas por vientos del noroeste, y en la costa oeste durante el verano con vientos del sureste (Álvarez-Borrego, 1983). Los valores de productividad son comúnmente mayores a  $1 \text{ g C}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$ , alcanzando en algunos lugares valores de hasta  $4 \text{ g C}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$  (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991).



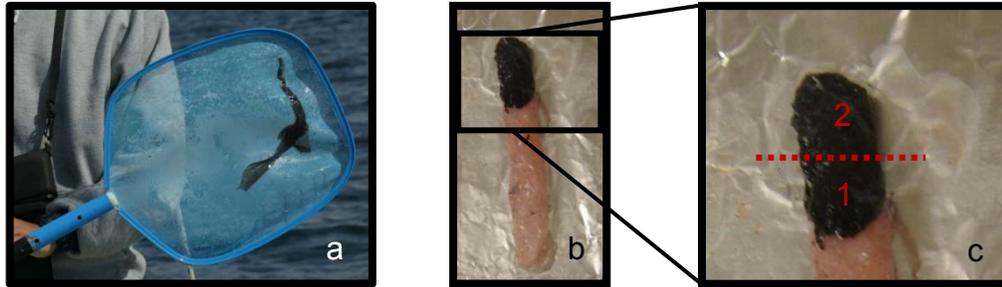
**Fig. 1.** El Golfo de California y subáreas: 1) Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas; 2) central; 3) sur.

## V. 2 TRABAJO DE CAMPO

Las muestras de piel descamada y biopsias analizadas en este estudio provienen de muestreos no sistemáticos efectuados a lo largo del Golfo de California durante los años 2000-2006. Los datos y muestras se colectaron a bordo de diferentes plataformas de investigación: velero de alta mar R/V Adia (13 m), bote de pesca deportiva CICIMAR XV (8 m), barco de investigación pesquera BIP XII (27.5 m) y embarcaciones tipo panga de (6.7 m) con motor fuera de borda.

Los cachalotes fueron localizados visualmente con ayuda de binoculares (Fujinon 7x50) y/o acústicamente por sus clicks característicos (Backus y Schevill, 1966) a través de un hidrófono omnidireccional con un rango de detección de 10-18 km. Una vez localizados, se siguió a los cachalotes visual y acústicamente (usando un hidrófono direccional) a una distancia aproximada de 50 m. En cada avistamiento se tomaron los siguientes datos: fecha, descripción de los integrantes del cluster (adulto, juvenil, cría o macho adulto) y posición geográfica. La información fue guardada en bitácoras o con ayuda de una mini computadora Hewlett Packard 200LX palmtop conectada a un GPS Garmin 12XL.

En el momento en el que los cachalotes iniciaban un buceo profundo se tomaron fotografías de la aleta caudal de cada individuo con una cámara Canon EOS 1D, 10D o 20D y un lente de 300 mm (Sigma f4) para ser utilizadas en el proceso de foto-identificación. En algunos casos, al mismo tiempo de tomar la fotografía se recolectó una biopsia de piel y grasa utilizando una flecha con punta modificada y flotador, disparada con una ballesta de más de 25 kg de empuje. Finalmente, se examinó la huella dejada por el cachalote al momento de su inmersión en busca de piel descamada y heces. Las muestras de piel se recolectaron utilizando una red con luz de malla de 1 mm unida a un mango de 2.5 (Fig. 2). Las muestras fueron colocadas en papel aluminio y guardadas en viales criogénicos para preservarlas congeladas a -40 °C o en su defecto fueron preservadas en viales con una solución de dimetil sulfóxido (DMSO) al 20 % saturada con sal (Amos y Hoelzel, 1991).



**Fig. 2.** Muestra de piel descamada de cachalote (a) y piel de biopsia (b) la cual se dividió en dos capas (c): una interna que esta en contacto con la grasa (1) y otra externa (2).

### V. 3 FOTO-IDENTIFICACIÓN

En el proceso de foto-identificación del cachalote se utilizan fotografías de la aleta caudal (Fig. 3) y se basa en la comparación de las marcas provocadas por parásitos, depredadores o por interacciones antropogénicas. A cada una de las fotografías se le asignó un nivel de calidad (Q) (valores de 1 a 5; asignando 5 a las fotografías con la mejor calidad) utilizando el método propuesto por Arnborn (1987), el cual evalúa la nitidez, resolución de la imagen, ángulo y la proporción visible de la aleta caudal en cada fotografía.



**Fig. 3.** Ejemplo del tipo de fotografía utilizadas en la identificación de los cachalotes y que se incluyen en catalogo de CICIMAR, con calidad Q=5.

Todas las fotografías fueron comparadas con el catalogo de Cachalote de CICIMAR; sin embargo, sólo aquellas con una  $Q \geq 3$  se incluyeron como nuevos individuos cuando no se encontraban recapturas. De esta forma al final del proceso

el 68% de las muestras de piel descamada o biopsias pertenecían a individuos foto-identificados. El resto de las muestras (32%) provienen de cachalotes observados en avistamientos aislados, con lo cual se trato de minimizar la posibilidad de que la muestra provenga de un mismo individuo.

#### **V. 4 PREPARACION DE MUESTRA PARA EL ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES**

En el caso de las biopsias, la piel se separó de la grasa con ayuda de una navaja de bisturí, la piel (descamada o de biopsia) fue lavada con agua destilada para eliminar el exceso de sal y posteriormente se colocó en viales. La muestras se congelaron a  $-40^{\circ}\text{C}$  y posteriormente fueron sometidas a un proceso de liofilización durante 24 horas a una temperatura de  $-50^{\circ}\text{C}$  en vacío a  $50 \times 10$  mbares.

Para evitar introducir artificios isotópicos con sesgo hacia los valores negativos por efecto de la presencia de lípidos, debido a que estos presentan un decremento de  $^{13}\text{C}$  y un enriquecimiento con  $^{12}\text{C}$  (DeNiro y Epstein, 1977), las muestras se sometieron a una extracción de lípidos siguiendo el protocolo de Extracción Asistida por Microondas (MAE). Para la extracción se utilizó como solvente una mezcla de cloroformo-metanol (1:1) las muestras se colocaron en los recipientes de un microondas (MARS-5 x CEM, Equipos Falcón, México) (Paré *et al.*, 1994; Renoe, 1994) y se incrementó la temperatura hasta alcanzar los  $100^{\circ}\text{C}$ , las muestras se mantuvieron bajo estas condiciones durante 10 min.

Cada una de las muestras libres de humedad y lípidos se colocaron en viales limpios, se les agregó 2 ml de una solución de cloroformo metanol (1:1) y se molieron en un homogenizador (System Polytron PT 2100, Kinematica, Suiza) a una velocidad de 11,000-30,000 rpm hasta obtener una mezcla fina y homogénea. Se dejó evaporar el exceso de solvente en una campana de extracción y se volvió a homogenizar el polvo obtenido con una espátula. En una capsula de estaño se pesó una muestra de  $1.5 \text{ mg} \pm 0.01 \text{ mg}$  en una micro balanza analítica (MX5 ultramicrobalanza, Mettler Toledo, México; precisión  $\pm 0.001 \text{ mg}$ ). Todo el proceso de

preparación de las muestras se realizó en el Laboratorio de Ecología de Mamíferos Marinos y en el Laboratorio de Oceanografía Química en las instalaciones de CICIMAR.

Las muestras fueron enviadas al Departamento de Ciencias de la Tierra y el Océano en la Universidad de California en Santa Cruz (UCSC) o en su defecto al Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de California en Davis (UC Davis), ambos laboratorios en California (EUA). Los análisis se hicieron utilizando un espectrómetro de masas de razones isotópicas IRMS Dual-Inlet VG Optima con interfase de flujo continuo a un analizador de carbono y nitrógeno NA-1500, Carlo-Erba (con una precisión de  $\pm 0.2$  ‰). Los estándares utilizados para la calibración del espectrómetro fueron  $\text{CO}_2$  (99.8%) con un  $\delta^{13}\text{C}$  con referencia al estándar internacional de la calcita fósil denominada Pee Dee Belemnite (PDB) = -43.85 y  $\text{N}_2$  (99.99%) con un  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) con referencia al nitrógeno atmosférico = -0.21, ambos estándares provienen del National Institute of Standard and Technology (NIST).

Los valores de las razones de los isótopos estables se calcularon a partir de la expresión estándar:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ó } \delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1] \times 1000$$

Donde R es  $\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$  para  $\delta^{13}\text{C}$ . El  $\delta^{13}\text{C}$  se expresa en referencia al estándar de PDB y el  $\delta^{15}\text{N}$  al nitrógeno atmosférico. El error analítico para las muestras fue de  $\pm 0.12$ ‰ para el carbono y de  $\pm 0.04$ ‰ para el nitrógeno.

## **V. 5 ANÁLISIS DE LOS DATOS**

### **V.5.1 VARIACIÓN POR MÉTODO DE PRESERVACIÓN, PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS Y/O TEJIDO**

Debido a que varios estudios, como el realizado por Todd *et al.* (1997) y Kaehler y Pakhomov (2001), mencionan que puede existir una variación en el  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  por efecto del método de preservación, se compararon muestras de piel

descamada de un mismo individuo, preservadas en congelación así como en DMSO. Con esta prueba se trató de descartar que la variación encontrada fuera por efecto del método de preservación de la muestra y no por una variación real en la dieta de los cachalotes.

En la mayor parte de los estudios en los que se analizan los isótopos de C y N, las muestras son sometidas a un proceso de extracción de lípidos debido a que estas biomoléculas presentan un decremento de  $^{13}\text{C}$  y un enriquecimiento con  $^{12}\text{C}$  (DeNiro y Epstein, 1977). La eficiencia entre los diferentes métodos de extracción de lípidos varía por lo que en este estudio se comparó la eficiencia entre el protocolo MAE (Extracción Asistida por Microondas) y el de ultrasonido. Se procesaron con el protocolo MAE (antes descrito), 14 submuestras de piel descamada de cachalote preservadas en DMSO que fueron previamente analizadas por Ruiz-Cooley *et al.* (2004) utilizando el protocolo de extracción de lípidos por ultrasonido. El procesamiento de las muestras realizado por Ruiz-Cooley *et al.* (2004) se llevo a cabo de la siguiente manera: las muestras se colocaron en viales a los cuales se les añadió una mezcla de cloroformo-metanol (1:1), posteriormente se colocaron en equipo de ultrasonido (B-5210, BRANSONIC<sup>®</sup>, EE.UU.) por 20 minutos a temperatura ambiente, este procedimiento se repitió cuatro veces.

Por otra parte, se analizó la variabilidad de la señal isotópica en diferentes tejidos comparando entre muestras de piel descamada y biopsia de un mismo individuo. La piel de las biopsias también se utilizó para analizar la variabilidad del  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre las diferentes capas epidérmicas como lo propone Busquets-Vass (2008). Para esta comparación la piel de las biopsias se dividió en 2 capas, una interna que está en contacto con la grasa (que incluye la capa epidérmica germinativa e intermedia) y otra externa (que incluye la capa epidérmica intermedia y externa) (Fig. 2). De acuerdo con los principios de los isótopos estables, el tejido analizado aporta información de la dieta consumida y asimilada durante su periodo de regeneración. De este modo, la capa interna reflejaría el alimento consumido y asimilado recientemente mientras que la capa externa aportaría información de un

periodo más antiguo. Este análisis nos permitió inferir si existen diferencias o cambios en la dieta en diferentes lapsos de tiempo.

## **V. 5.2 HEMBRAS E INMADUROS**

### **V. 5.2.1 VARIACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL**

Para la comparación espacial, el Golfo de California se dividió en tres zonas de acuerdo a la distribución y abundancia de cachalote y calamar gigante (Jaquet y Gendron 2002; Nevárez-Martínez *et al.*, 2000) (Fig. 1): 1) Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas que se caracteriza por una gran abundancia de cachalote y calamar gigante y es una zona muy productiva; 2) central que incluye la depresión de Guaymas y la del Farallón en donde los avistamientos de cachalote son frecuentes y se han reportados agregaciones de calamar y 3) sur donde no se tiene mucha información acerca de la abundancia de ambas especies, va desde el sur de la Bahía de La Paz y la Isla Macapule en Sinaloa hasta la boca del golfo.

En cuanto a la variación temporal se analizaron las muestras del periodo 2000-2005 con excepción del 2001 (debido a ausencia de muestras). El Golfo de California presenta dos periodos con características opuestas en relación a la temperatura superficial y la productividad: 1) temporada fría (diciembre-mayo) caracterizada por bajas temperaturas y una alta productividad, 2) temporada cálida (junio-noviembre) con altas temperatura y una baja productividad (Lluch-Cota *et al.*, 2007). De acuerdo con el mes en el que se recolectó cada una de las muestras se asignó a una de estas temporadas. La comparación en la escala temporal estacional sólo se llevó a cabo en el año 2002 ya que fue el único año en que se tenían suficientes muestras para llevarla a cabo.

### **V. 5.2.2 ESTRUCTURA SOCIAL**

La comparación de los diferentes niveles de la estructura social del cachalote se efectuó a nivel individual, grupo social y clan, omitiendo las unidades sociales por carecer de la información suficiente para delimitarlas.

El proceso de asignación de una muestra a un individuo se efectuó haciendo una revisión de las bitácoras para localizar las fotografías de la muestra correspondiente, las cuales a su vez fueron sometidas al proceso de foto-identificación anteriormente descrito. De esta forma se pudieron analizar muestras de un individuo tomadas el mismo día así como muestras colectadas en días diferentes (en el caso de tener una foto-recaptura).

Para definir los grupos de hembras de cachalotes y sus miembros se utilizó una modificación de la fórmula propuesta por Weilgart y Whitehead (1997).

$$m_{AB} > 0.50 \cdot \text{Mínimo}(n_A, n_B)$$

Donde  $n_A$  es el número de ballenas identificadas en el día A,  $n_b$  es el número de ballenas identificadas en el día B y  $m_{AB}$  es el número de recapturas en ambos días. En la fórmula original se considera que los individuos foto-identificados pertenecen a un mismo grupo social cuando el número de foto-recapturas entre dos días es mayor de .25, en este trabajo el porcentaje se elevó a .50 para delimitar los grupos con mayor certeza.

Para evaluar las diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre los grupos de cachalotes del Golfo de California sólo se utilizaron grupos con  $n \geq 5$  de acuerdo con el número de muestras utilizado por Marcoux *et al.* (2007) en la comparación de grupos en el Pacífico Sur.

La información de los clanes se obtuvo del trabajo realizado por Álvarez-Torres (2006), quien sugiere que al menos tres clanes vocales se distribuyen en el Golfo de California. El método utilizado para la asignación de los grupos a un clan en dicho estudio fue el propuesto por Rendell y Whitehead (2003), el cual se basa en el análisis de los distintos tipos de codas producidas por los grupos, aquellos con una mayor similitud en sus repertorios se ubican dentro de un mismo clan. En el Pacífico Sur se tienen registrados cinco clanes simpátricos: regular, +1, ++1/+1+1, short y 4+

(Rendell y Whitehead, 2003); mientras que, en el Golfo de California se han observado grupos pertenecientes al clan short y 4+ (Alvarez-Torres, 2006).

### **V.5.3 COMPARACIÓN ENTRE HEMBRAS E INMADUROS Y MACHOS ADULTOS**

El cachalote se caracteriza por tener un dimorfismo sexual muy marcado, las hembras adultas se distinguen fácilmente de los machos adultos los cuales alcanzan hasta los 18 m (Caldwell *et al.*, 1966; Rice, 1989). Además, los machos adultos a diferencia de las hembras se encuentran frecuentemente solos y producen vocalizaciones específicas denominadas “slow clicks” que nunca han sido registradas en hembras o machos inmaduros (Weilgart y Whitehead, 1988). En el campo estas diferencias en talla y en el tipo de sonidos emitidos son muy evidentes por lo que en el avistamiento fue posible determinar si una muestra o fotografía pertenecían a un macho adulto o no. A pesar de que en el Golfo de California se tiene una alta probabilidad de observación de machos adultos en comparación con otras áreas (Jaquet *et al.*, 2003), los avistamientos no son muy frecuentes y por lo tanto el número de muestra fue mucho menor que para las hembras. Por esta razón la información referente a los machos adultos sólo se analizó en una comparación general de la señal isotópica con la de las hembras e inmaduros.

### **V.5.4. COMPARACION CON RESULTADOS ANTERIORES**

Se compararon los resultados obtenidos con los reportados por Ruiz-Cooley *et al.* (2004) y Díaz-Gamboa (2003). Debido a las diferencias en los protocolos utilizados en la extracción de lípidos durante la preparación de las muestras y al sesgo que esto pudiera representar en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  sólo se compraron los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ .

## **V. 6 ANALISIS ESTADISTICOS**

Los datos se sometieron a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (K-S) y a la prueba de homogeneidad de variancias de Levene y/o Bartlett con el

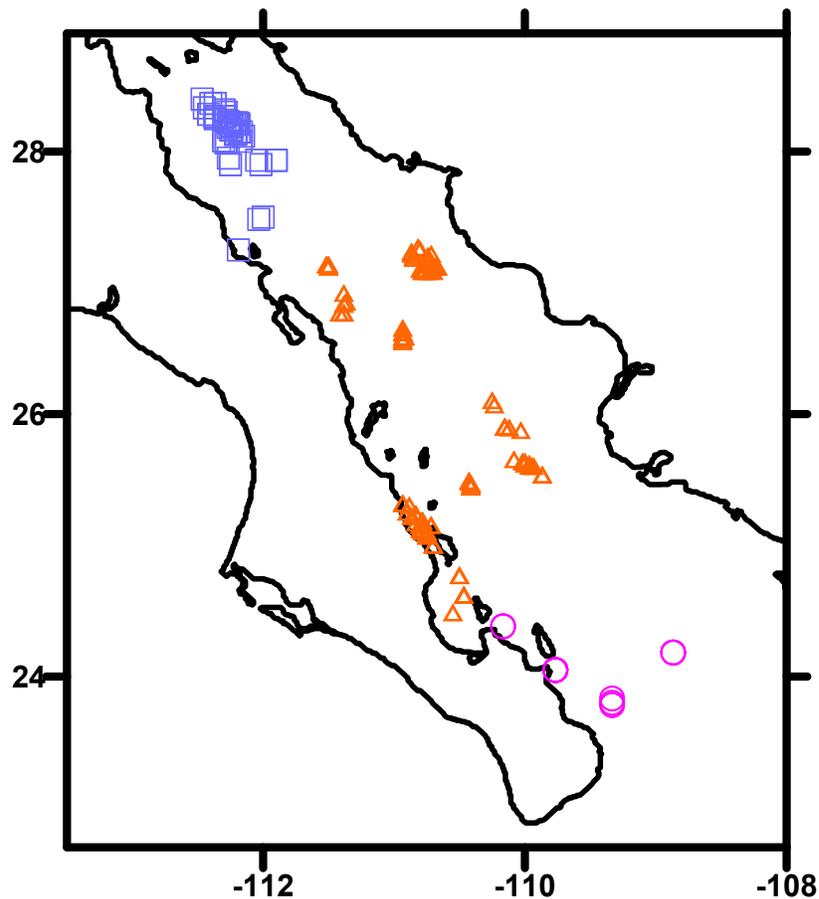
objetivo de determinar si los datos podrían ser analizados empleando estadística paramétrica.

En el caso del análisis de la variación por método de preservación y/o tejido así como en las comparaciones de las hembras (excepto estructura social), se utilizó estadística paramétrica. Para probar si existían diferencias en la preservación (DMSO vs. congelado), a nivel del tejido (piel descamada vs. biopsia) y capas epidérmicas (capa epidérmica externa e intermedia vs capa germinativa e intermedia) se utilizó la prueba t-student para la comparación de medias de dos grupos. Los resultados de la prueba se reportaron en términos de  $t$  (valor de la prueba estadística) y  $P$  (la cuál indicó el nivel de significancia observado). En el caso de las comparaciones entre áreas (Santa Rosalía-SPM-Guaymas vs. centro vs. sur del Golfo de California), años (2000-2005) y temporada (fría y cálida) se realizó un análisis de varianza de una vía (ANDEVA). El análisis de los datos se reportó en términos de  $F_{m,n}$  (el valor transformado de la prueba estadística para una distribución  $F$  aproximada con  $m$  grados de libertad para la hipótesis y  $n$  grados de libertad para el error) y  $p$  (la cuál indicó el nivel de significancia observado). La prueba *a posteriori* de Tukey para diferente tamaño de muestra (HSD) fue utilizada para determinar que áreas o años presentaban diferencias significativas.

Cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se utilizó estadística no paramétrica. Para la comparación entre los diferentes grupos y la comparación entre estudios se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis como una alternativa del ANDEVA. Adicionalmente, se utilizó la prueba *a posteriori* de Dunn para determinar en que grupos, estudios, áreas y años había diferencias significativas. En la comparación entre hembras e inmaduros vs. machos adultos y en la determinación del efecto del método de extracción de lípidos (ultrasonido vs. MAE) se utilizó la prueba U de Mann-Whitney como alternativa a la ANDEVA de una vía. En todos los análisis estadísticos se tomó como nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete STATISTICA® Ver 6.0 (STATSOFT, San Diego, CA, EE.UU.).

## VI. RESULTADOS

Se analizaron un total de 174 muestras pertenecientes a 151 individuos, de los cuales el 68% de las muestras pertenecen a individuos foto-identificados y el 32% restante a cachalotes no identificados. Del total de las muestras, 151 eran piel descamada y 23 piel de biopsias (Tabla 1), la mayoría se recolectaron en la zona de Santa Rosalía-SPM-Guaymas y la zona central (Fig. 4). De los 151 individuos muestreados, 129 son hembras e inmaduros (Anexo I) y 22 machos adultos (Anexo II).



**Fig. 4.** Lugares de recolección de las muestras de cachalote (piel descamada y biopsias) durante el periodo 2000-2006. El cuadrado-azul corresponde a las muestras recolectadas en Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas ( $n = 52$ ), en triángulo-anaranjado las de la zona central ( $n = 104$ ) y en círculo-rosa las de la zona sur ( $n = 18$ ).

**Tabla 1.** Número de muestras de piel y biopsias de cachalotes en el periodo 2000-2006, además de las muestras re-analizadas del periodo 1996-1999.

	1996-1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<b>Piel descamada</b>	14	15	3	58	30	4	25	2
<b>Biopsias</b>		0	0	10	1	2	10	0

## VI. 1 VARIACIÓN POR MÉTODO DE PRESERVACIÓN, PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS Y/O ENTRE TEJIDO

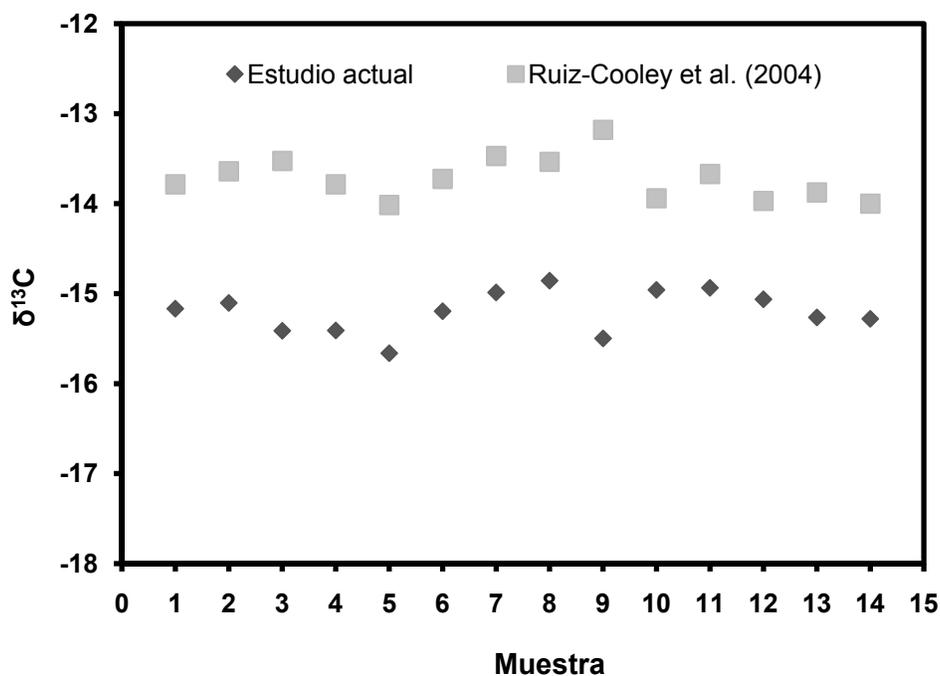
### VI.1.1 EFECTO DEL PRESERVADOR (DMSO VS CONGELADO)

Sólo se obtuvieron tres muestras preservadas tanto en DMSO como congeladas. En los tres casos se analizaron muestras de piel descamada. No se obtuvieron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $t=0.47$ ,  $p>0.05$ ) ó  $\delta^{15}\text{N}$  ( $t=-0.05$ ,  $p>0.05$ ) de las muestras preservadas con ambos métodos. Los valores promedio y la desviación estándar ( $\pm$  DE) de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de las muestras preservadas en DMSO fue  $\delta^{13}\text{C} = -18.16 (\pm 0.71 \text{‰})$  y  $\delta^{15}\text{N} = 17.63 (\pm 0.69 \text{‰})$  mientras que para las muestra congeladas fue  $\delta^{13}\text{C} = -17.90 (\pm 0.64 \text{‰})$  y  $\delta^{15}\text{N} = 17.60 (\pm 0.66 \text{‰})$ . Aunque se debe tomar con cautela estos resultados debido al bajo número de muestra se puede considerar al DMSO como un preservador que no altera la señal isotópica de C y N en las muestras de piel descamada de cachalote y por lo tanto son comparables las muestras preservadas con ambos métodos.

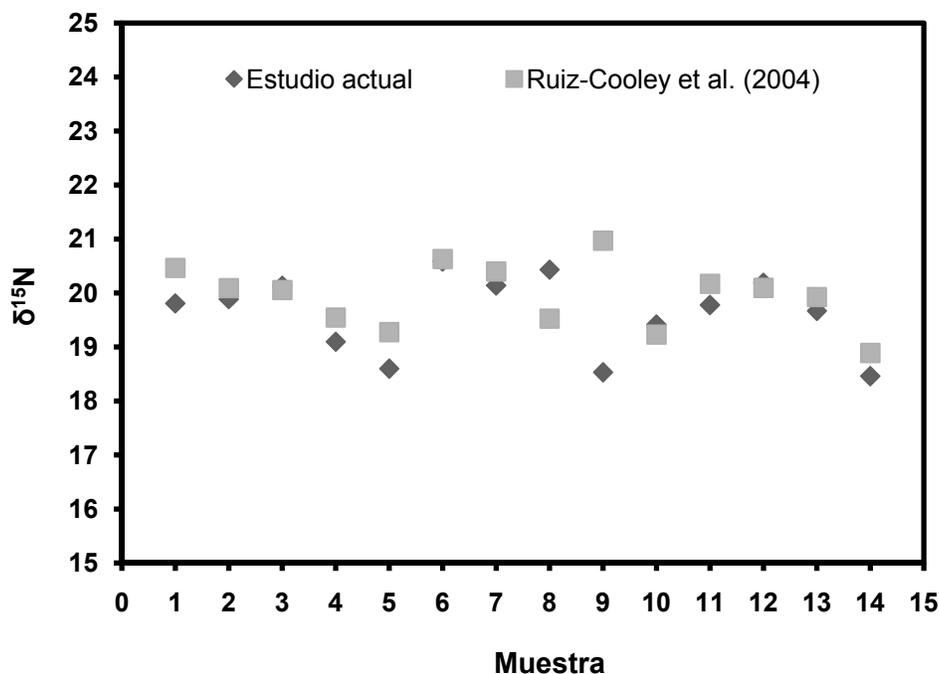
### VI.1.2 EFECTO DEL PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS (MAE versus ULTRASONIDO).

Con el objetivo de verificar si existe un efecto en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  por el protocolo de extracción de lípidos utilizado durante la preparación de las muestras, se re-analizaron con el protocolo de extracción MAE 14 muestras previamente examinadas por Ruiz-Cooley *et al.* (2004) con el protocolo de extracción por ultrasonido. Se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $U=0.00$   $p<0.05$ ) de las muestras procesadas con ambos métodos de extracción de lípidos, lo

que indica que los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  son alterados por el protocolo de extracción de lípidos. Las muestras procesadas siguiendo el protocolo de extracción por ultrasonido presentaron valores más positivos de  $\delta^{13}\text{C}$  del orden de  $1.48\text{‰} \pm 0.33$  por arriba que sus pares en las que se utilizó el método de extracción MAE (Fig. 5). No se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U=75.00$   $p>0.05$ ) entre las muestras de piel descamada preparadas con ambos métodos de extracción de lípidos (Fig. 6), lo que demuestra que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  no son afectados por el protocolo de extracción de lípidos empleado en la preparación de las muestras. Los resultados indican que los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  obtenidos con diferentes métodos de extracción de lípidos no son comparables, mientras que sí lo son los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ . La muestra número nueve presentó valores en ambos isotopos (Fig. 5 y 6) que no concordaban con la tendencia general que mostraron los datos, al revisar las bitácoras no se encontró información que indicara el origen de esta discrepancia. Será necesario re-analizar la muestra para descartar cualquier posible error durante la preparación.



**Fig. 5.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (en ‰) de las muestras analizadas siguiendo el protocolo de extracción lípidos MAE (estudio actual) y ultrasonido (Ruiz-Cooley et al., 2004).



**Fig. 6.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (en ‰) de las muestras analizadas siguiendo el protocolo de extracción lípidos MAE (estudio actual) y ultrasonido (Ruiz-Cooley *et al.*, 2004).

### VI.1.3 PIEL DESCAMADA VS PIEL DE BIOPSIAS

Se midió la composición isotópica de seis muestras de piel descamada y seis biopsias, cada par de muestras provenían de un individuo foto-identificado. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $t = -0.54$ ,  $p > 0.05$ ) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $t = 0.62$ ,  $p > 0.05$ ). En promedio los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  fueron más altos en biopsia (media  $\pm$  DE,  $\delta^{13}\text{C} = -15.48 \pm 1.07$  ‰) que en piel descamada ( $\delta^{13}\text{C} = -15.88 \pm 1.51$  ‰). Aunque no fue significativo, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  fueron en promedio mayores en piel descamada ( $\delta^{15}\text{N} = 19.64 \pm 1.51$ ) que en biopsias ( $\delta^{15}\text{N} = 17.60 \pm 0.66$ ).

### VI.1.4 CAPAS EPIDERMICAS

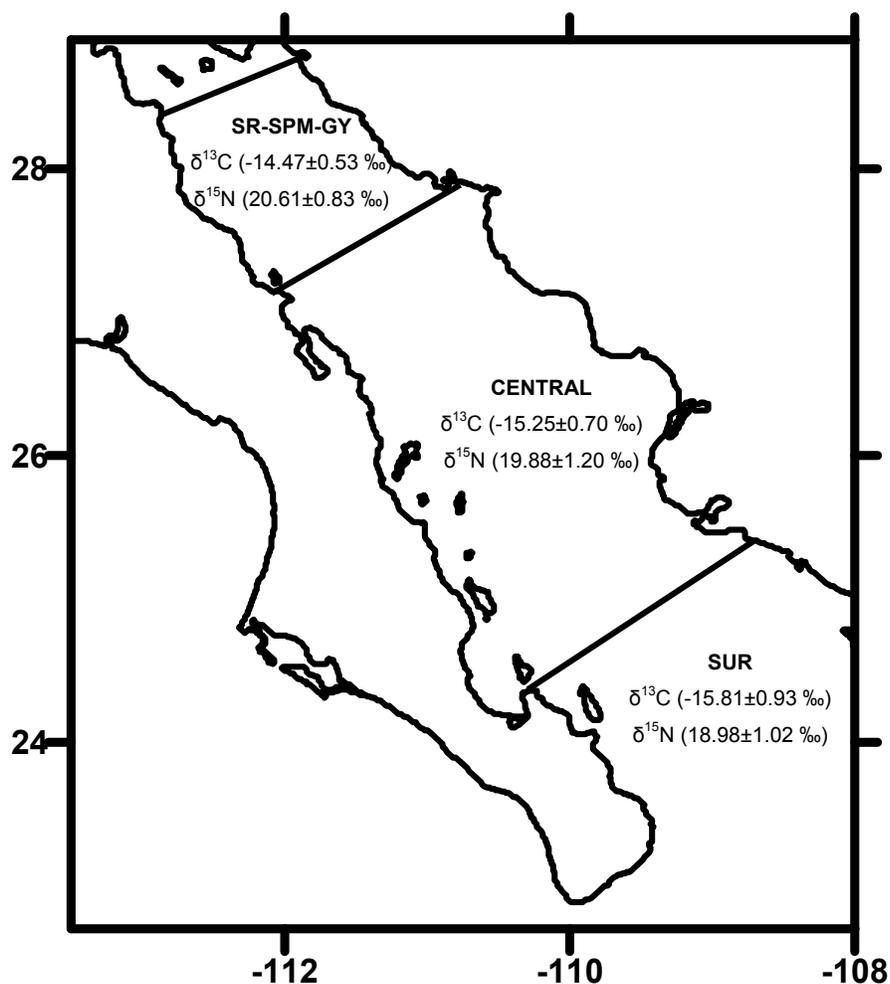
Se analizó la señal isotópica de la capa interna y externa de la epidermis de 13 biopsias. No se obtuvieron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $t = -1.59$ ,  $p > 0.05$ ) ó  $\delta^{15}\text{N}$  ( $t = -0.01$ ,  $p > 0.05$ ) entre las capas epidérmicas. El valor promedio de  $\delta^{13}\text{C}$  para la capa interna fue  $\delta^{13}\text{C} = -15.11$  ( $\pm 0.66$  ‰) y para la capa externa fue  $\delta^{13}\text{C} = -15.11$  ( $\pm 0.94$  ‰). Nuevamente, aunque no fue significativo se

observó un valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  mayor en la capa interna ( $18.88 \pm 0.84 \text{ ‰}$ ) en comparación con la capa externa ( $19.56 \pm 1.28 \text{ ‰}$ ).

## VI.2 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE HEMBRAS E INMADUROS

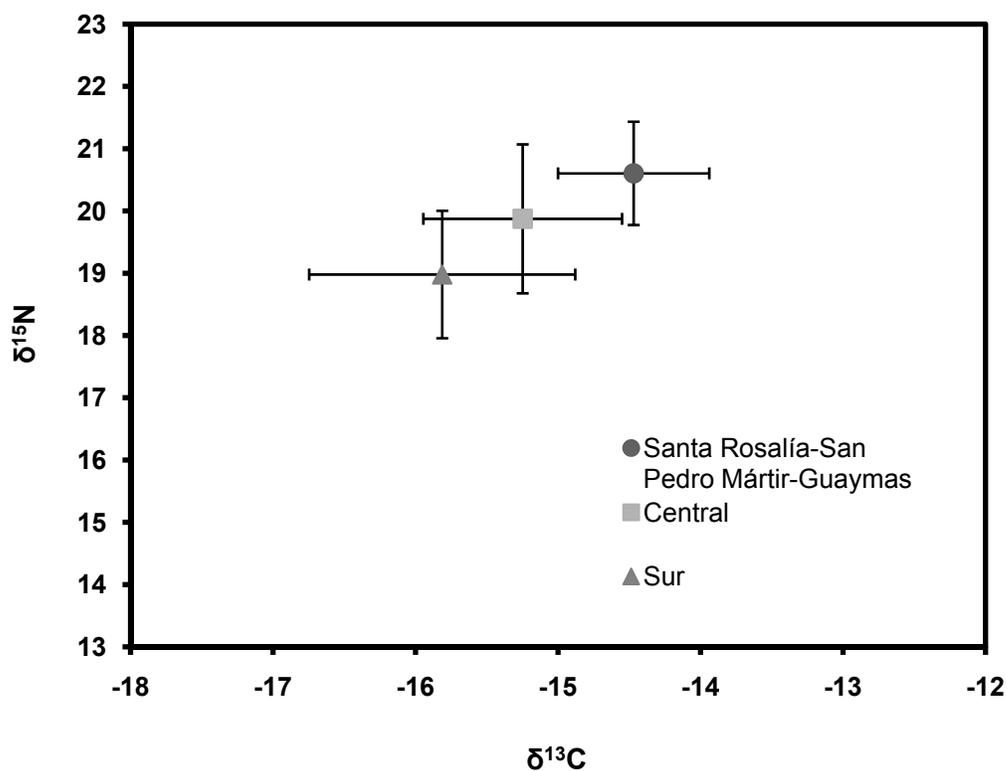
### VI.2.1 VARIACIÓN ENTRE ÁREAS

De un total de 129 muestras de piel de hembras e inmaduros, 41 muestras fueron colectadas en la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas, 77 en la zona central y 11 en la zona sur.



**Fig. 7.** Gradiente norte-sur en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de la piel de cachalotes del Golfo de California.

De manera general se observó un gradiente norte-sur en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de la piel de cachalotes del Golfo de California (Figura 7). Se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F_{(2,126)} = 25.22$ ,  $p < 0.05$ ) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F_{(2,126)} = 11.32$ ,  $p < 0.05$ ) de la piel de las hembras e inmaduros provenientes de las tres zonas del Golfo de California. Los cachalotes en la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas presentaron valores de  $\delta^{13}\text{C}$  significativamente más altos que los de las otras dos zonas (Fig. 8, Tabla 2). En la zona central los cachalotes presentaron valores intermedios de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-15.25 \pm 0.70$  ‰) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $19.88 \pm 1.20$  ‰) entre las otras dos zonas, mientras que los de la zona sur registraron los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-15.81 \pm 0.93$  ‰) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $18.98 \pm 1.02$ ) más bajos. No se encontraron diferencias significativas en  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre los cachalotes de la zona central y la zona sur (Tabla 2).



**Fig. 8.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de piel de cachalotes hembra e inmaduros recolectadas en las tres zonas del Golfo de California.

**Tabla 2.** Diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre las zonas del Golfo de California, mediante la prueba *a posteriori* de Tukey. \*Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ ) de cada zona.

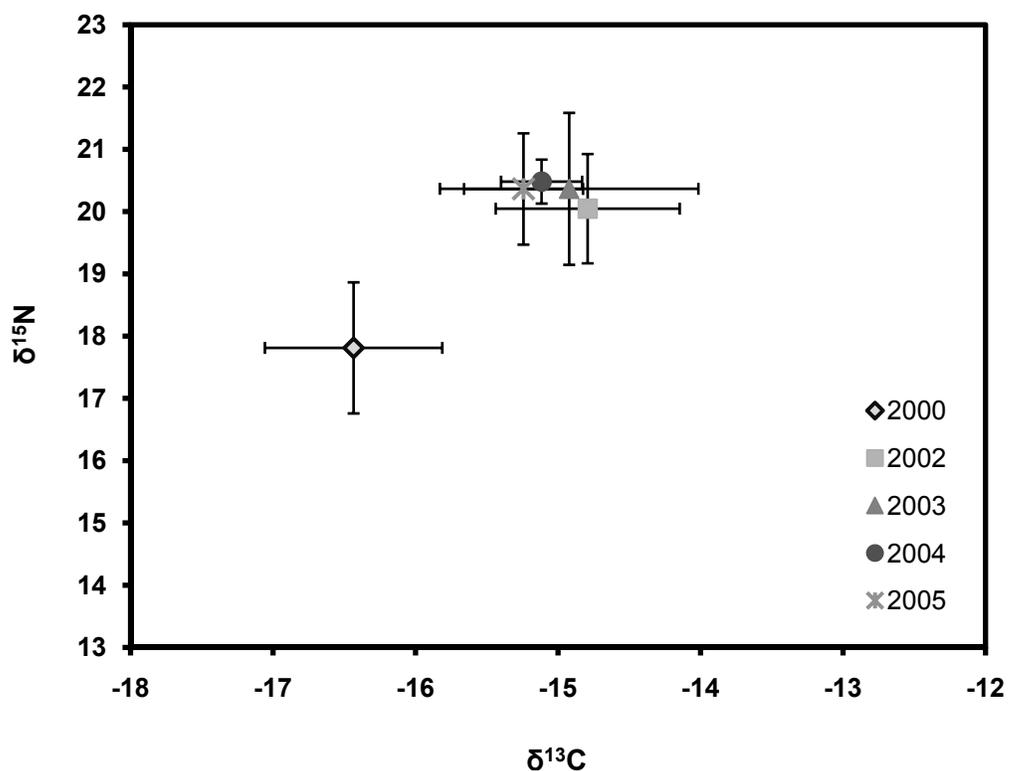
$\delta^{13}\text{C}$	1 (-14.48)	2 (-15.25)	3 (-15.81)
1. Zona Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas		<0.05*	<0.05*
2. Zona Central	<0.05*		>0.05
3. Zona Sur	<0.05*	>0.05	

$\delta^{15}\text{N}$	1 (20.58)	2 (19.87)	3 (18.98)
1. Zona Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas		<0.05*	<0.05*
2. Zona Central	<0.05*		>0.05
3. Zona Sur	<0.05*	>0.05	

### VI.2.2 VARIACIÓN INTERANUAL

Las 129 muestras de piel de hembras e inmaduros fueron recolectadas en el período 2000-2005 de la siguiente forma: 2000 ( $n = 10$ ), 2002 ( $n = 60$ ), 2003 ( $n = 28$ ), 2004 ( $n = 4$ ) y 2005 ( $n = 27$ ). Se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F_{(4,124)} = 13.88$ ,  $p < 0.05$ ) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F_{(4,124)} = 14.93$ ,  $p < 0.05$ ) de la piel entre años (Fig. 9). Sólo el año 2000 exhibió valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-16.43 \pm 0.62$  ‰) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $17.81 \pm 1.05$  ‰) significativamente más bajos que el resto del período de estudio (Tabla 3).



**Fig. 9.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de piel de cachalotes hembra e inmaduros recolectadas durante el período 2000-2005.

**Tabla 3.** Diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en el período 2000-2005, mediante la prueba *a posteriori* de Tukey. \*Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ ) de cada año.

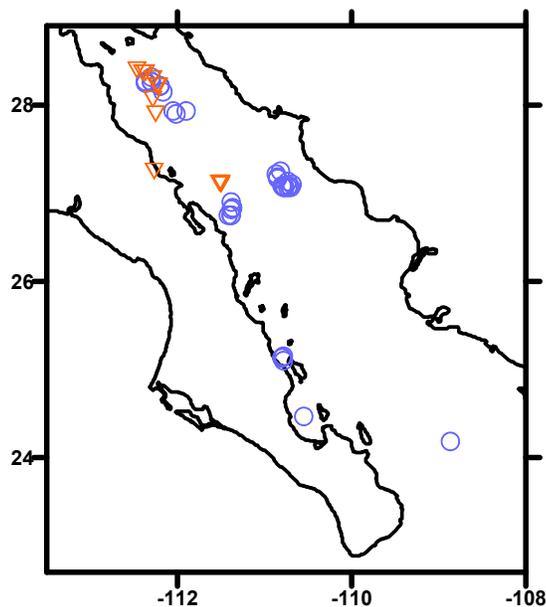
$\delta^{13}\text{C}$	2000 (-16.43)	2002 (-14.79)	2003 (-14.92)	2004 (-15.12)	2005 (-15.24)
1. 2000		<0.05*	<0.05*	<0.05*	<0.05*
2. 2002	<0.05*		>0.05	>0.05	>0.05
3. 2003	<0.05*	>0.05		>0.05	>0.05
4. 2004	<0.05*	>0.05	>0.05		>0.05
5. 2005	<0.05*	>0.05	>0.05	>0.05	

Continuación tabla 3...

$\delta^{15}\text{N}$	2000 (17.81)	2002 (20.05)	2003 (20.36)	2004 (20.48)	2005 (20.36)
1. 2000		<0.05*	<0.05*	<0.05*	<0.05*
2. 2002	<0.05*		>0.05	>0.05	>0.05
3. 2003	<0.05*	>0.05		>0.05	>0.05
4. 2004	<0.05*	>0.97	>0.05		>0.05
5. 2005	<0.05*	>0.75	>0.05	>0.05	

### VI.2.3 VARIACIÓN ENTRE TEMPORADA FRÍA Y CÁLIDA

Un total de 60 muestras de piel de hembras en inmaduros recolectadas durante la temporada fría (n = 41) y cálida (n = 19) del año 2002 fueron analizadas, la mayoría de las muestras provienen de cachalotes distribuidos en la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y la parte norte de la zona central (Fig. 10). No se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F_{(1,58)}=2.14$ ,  $p > 0.05$ ) y  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F_{(1,58)}=0.72$ ,  $p > 0.05$ ) de la piel recolectada en la temporada fría y cálida.



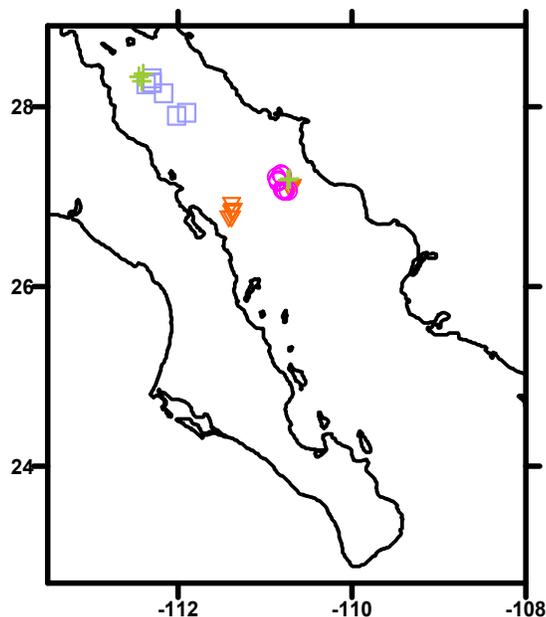
**Fig. 10.** Localidades en donde se recolectaron las muestras de piel de cachalotes hembra e inmaduros durante la temporada fría (círculo-azul) y cálida (triángulo-anaranjado) del año 2002.

## VI.2.4 VARIACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES NIVELES DE LA ESTRUCTURA SOCIAL DEL CACHALOTE

Se analizó la señal isotópica de 69 muestras de piel provenientes de 18 grupos de cachalotes observados en la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y la zona central, sólo cuatro contaron con un número de muestra mayor a 5 (Tabla 4). Para la comparación de grupos ( $n \geq 5$ ) se utilizaron 30 muestras de los grupos 1, 2, 5 y 11. Las muestras de piel de los grupos se recolectaron en la región de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y la zona central en ambas costas del Golfo de California (Fig. 11).

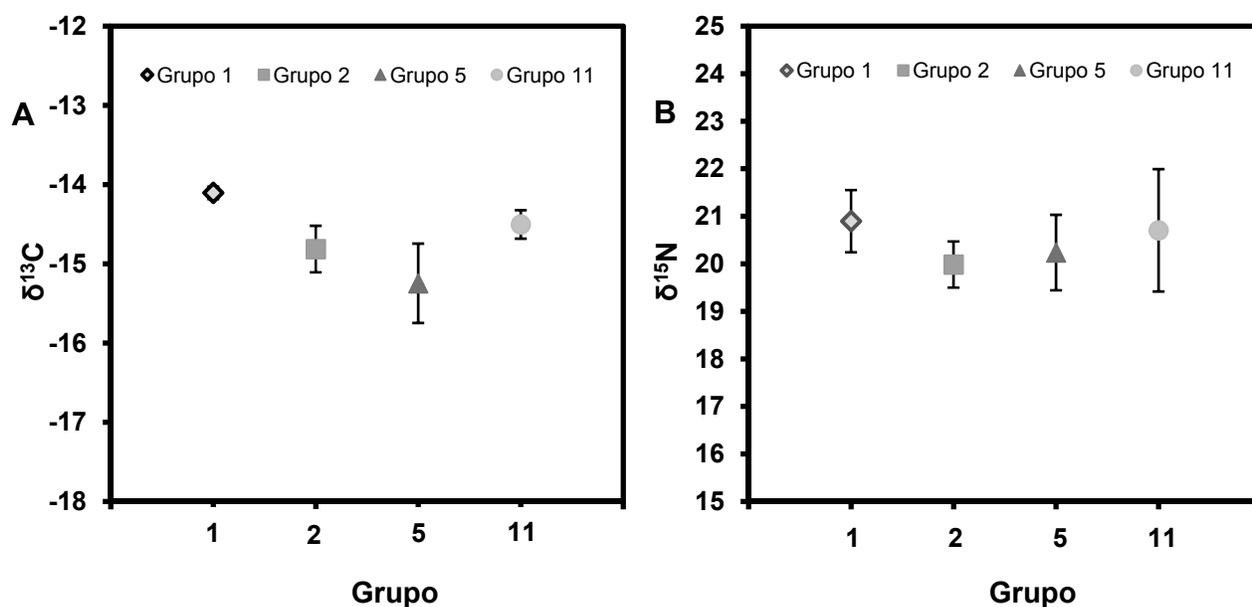
**Tabla 4.** Número de muestras de piel analizadas por grupo de cachalotes hembra e inmaduros.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Piel (n)</b>	7	9	2	1	9	3	1	1	2	3	5	3	3	1	1	3	2	4



**Fig. 11.** Lugares donde se recolectaron de las muestras de piel de los grupos de cachalotes hembra e inmaduros 1 (cuadrado-azul), 2 (triangulo-anaranjado), 5 (circulo-rosa) y 11 (cruz-verde).

Se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $H_{3,n=30} = 21.13$ ,  $p < 0.05$ ) de la piel recolectada entre los grupos 1, 2, 5 y 11 (Fig. 12). En contraste, no se encontraron diferencias significativas ( $H_{3,n=30} = 4.64$ ,  $p > 0.05$ ) en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de la piel de los diferentes grupos (Fig. 12). El grupo 1 ( $\delta^{13}\text{C} = -14.11 \pm 0.08$  ‰) exhibió valores de  $\delta^{13}\text{C}$  significativamente más altos que los grupos 2 ( $\delta^{13}\text{C} = -14.81 \pm 0.29$  ‰) y 5 ( $\delta^{13}\text{C} = -15.25 \pm 0.50$  ‰), en cambio, no se encontraron diferencias significativa entre los grupos 1 y 11 ( $\delta^{13}\text{C} = -14.50 \pm 0.18$  ‰) ambos distribuidos en la región de Santa Rosalía- San Pedro Mártir-Guaymas (Tabla 5).

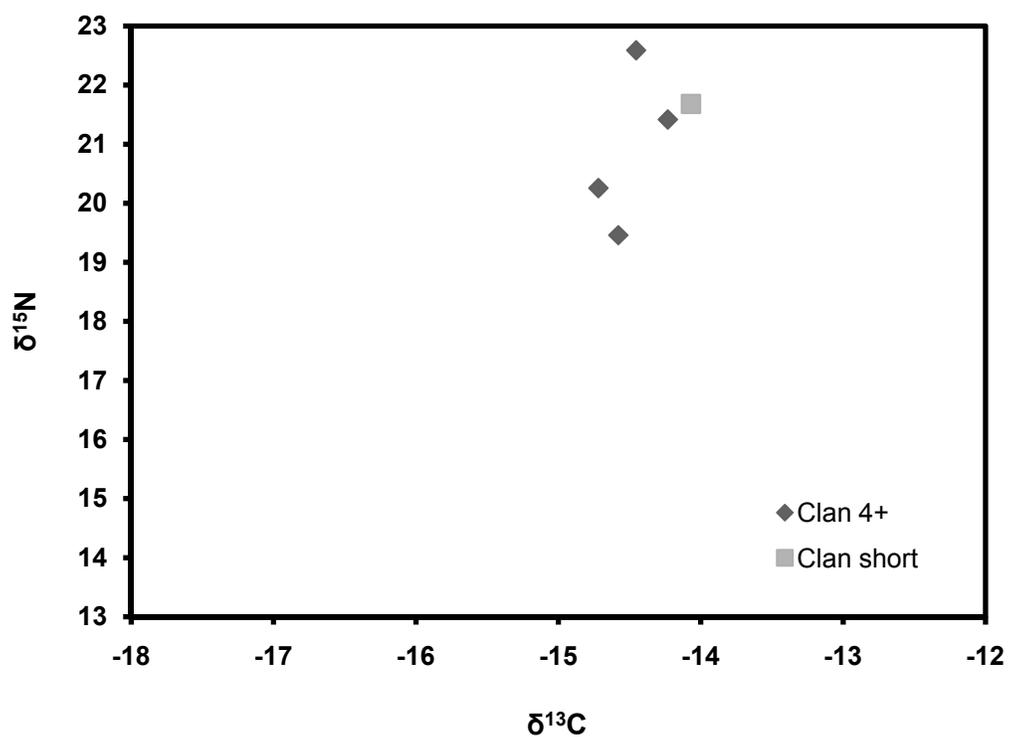


**Fig. 12.** Valores de A)  $\delta^{13}\text{C}$  y B)  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de la piel de los grupos de cachalotes 1, 2, 5, y 11.

En cuanto a la comparación entre clanes se obtuvo información sobre la pertenencia a un cierto clan (ver Álvarez-Torres, 2006) sólo para 5 individuos. De estos 4 individuos pertenecían al clan 4+ y el otro al clan short. El número limitado de muestras no permitió realizar los análisis estadísticos pertinentes, sin embargo, no se observó una separación clara de las señales isotópicas del  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre clanes (Fig. 13).

**Tabla 5.** Diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  en la piel de los grupos de cachalotes 1, 2, 5, y 11, mediante la prueba *a posteriori* de Dunnet (valores de *p*). \*Comparaciones en las que se encontraron diferencias significativas, en paréntesis la media ( $\delta^{13}\text{C}$ ) de cada grupo.

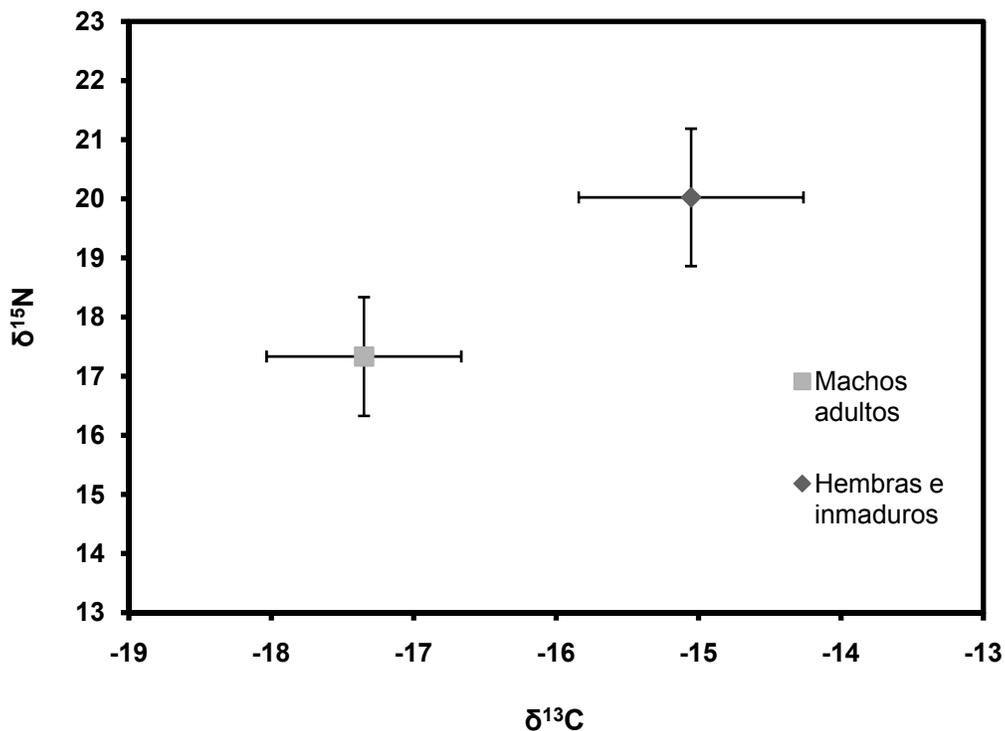
$\delta^{13}\text{C}$	Grupo 1 (-14.11)	Grupo 2 (-14.81)	Grupo 5 (-15.25)	Grupo 11 (-14.50)
1. Grupo 1		<0.05*	<0.05*	>0.05
2. Grupo 2	<0.05*		>0.05	>0.05
3. Grupo 5	<0.05*	>0.05		>0.05
4. Grupo 11	>0.05	>0.05	>0.05	



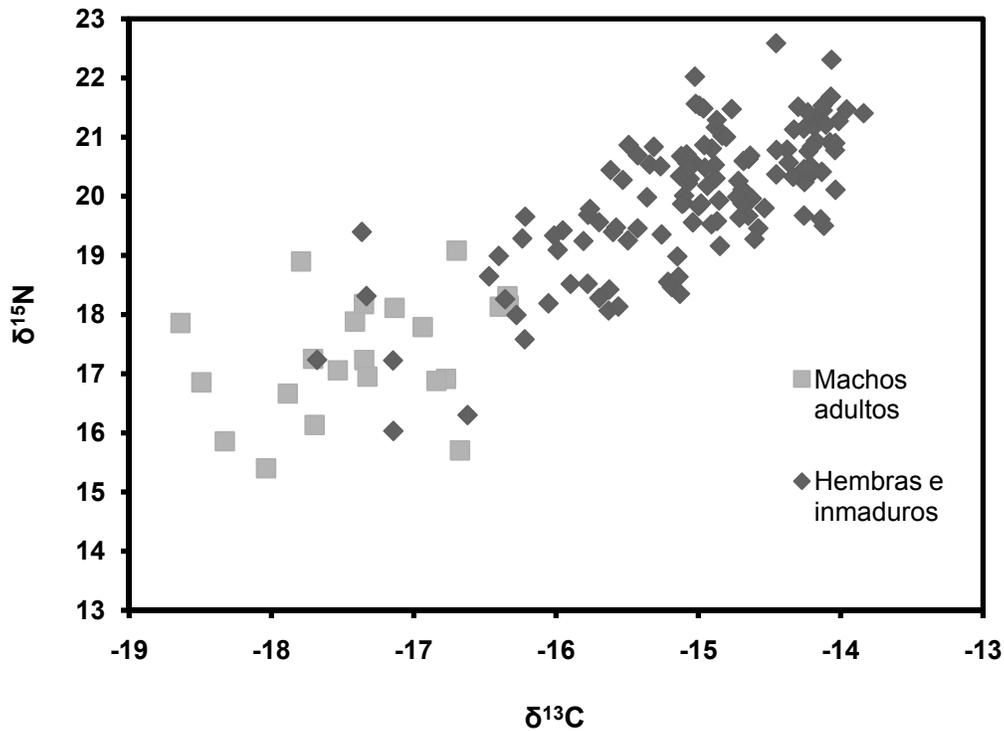
**Fig. 13.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de la piel descamada de los clanes.

### VI.3 VARIACION DE LA SEÑAL ISOTÓPICA ENTRE HEMBRAS E INMADUROS vs MACHOS ADULTOS

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de las 129 muestras de piel de hembras e inmaduros fluctuaron entre  $-17.68\text{‰}$  y  $-13.84\text{‰}$  para el  $\delta^{13}\text{C}$  y de  $16.03\text{‰}$  a  $22.59\text{‰}$  para el  $\delta^{15}\text{N}$ . Con respecto a las 22 muestras de machos adultos, el valor mínimo de  $\delta^{13}\text{C}$  fue de  $-18.64\text{‰}$  y el máximo de  $-16.33\text{‰}$ , mientras que el  $\delta^{15}\text{N}$  fluctuó entre  $15.40\text{‰}$  y  $19.08\text{‰}$ . En general, las hembras e inmaduros ( $\delta^{13}\text{C} = -15.05 \pm 0.79\text{‰}$  y  $\delta^{15}\text{N} = 20.02 \pm 1.16\text{‰}$ ) exhibieron valores significativamente más altos que los machos adultos ( $\delta^{13}\text{C} = -17.35 \pm 0.68\text{‰}$  y  $\delta^{15}\text{N} = 17.33 \pm 1.00\text{‰}$ ) para ambos isótopos ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $U = 65.00$ ,  $p < 0.00$ ;  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $U = 118.00$ ,  $p < 0.00$ ; Fig. 14). Es interesante notar el traslape entre los valores  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de algunas hembras o inmaduros con los machos adultos (Fig. 15). Las hembras o inmaduros que registraron estos valores bajos fueron muestreados en la parte sur de la zona central o en la zona sur del Golfo de California.



**Fig. 14.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (media  $\pm$  DE en ‰) de la piel de hembras e inmaduros y de machos adultos de cachalote recolectada en el Golfo de California.



**Fig. 15.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (en ‰) de la piel de hembras e inmaduros y de machos adultos de cachalote muestreados en el Golfo de California.

#### VI.4 COMPARACIÓN CON ESTUDIOS ANTERIORES

Se compararon los resultados de los valores  $\delta^{15}\text{N}$  de muestras de piel descamada y biopsias de hembras e inmaduros así como de machos adultos con los reportados por Díaz-Gamboa (2003) y Ruiz-Cooley *et al.* (2004) (Tabla 6).

Se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $H_{2,n=163} = 17.20$ ,  $p < 0.05$ ) en la piel de hembras e inmaduros recolectada en los diferentes estudios. El valor promedio más alto fue registrado en el presente estudio y fue significativamente diferente a los estudios de Díaz-Gamboa (2003) y Ruiz-Cooley *et al.* (2004). Al aumentar el tamaño de muestra ( $n$ ) se pudo observar que la variación de la señal isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$  de las muestras de piel, medida como la desviación estándar, se incrementaba y por consiguiente fue mayor en el presente estudio (Tabla 7).

**Tabla 6.** Periodo de muestreo, áreas de colecta y número de muestras de cada uno de los estudios. Las áreas de colecta están en referencia a las zonas en que se dividió el Golfo de California en este estudio.

	Periodo de estudio	Áreas de colecta	Número de muestra (n)	
			Hembras e inmaduros	Machos adultos
<b>Ruiz-Cooley <i>et al.</i> (2004)</b>	1996-99	Zona 1-2	35	7
<b>Díaz-Gamboa (2003)</b>	2002	Zona 1-2	10	
<b>Estudio actual</b>	2000-2006	Zona 1-2	118	26

No se no se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de machos adultos entre los estudios ( $\delta^{15}\text{N } U= 64.00, p>0.05$ ). Sin embargo, se observó que al igual que en hembras e inmaduros los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  fueron mayores en el presente estudio que en el elaborado por Ruíz-Cooley *et al.* (2004) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Comparación de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de muestras de piel descamada y biopsias de cachalotes hembra e inmaduros y machos adultos del Golfo de California obtenidos en este estudio y los reportados en estudios previos. \* Media y desviación estándar (DE) en ‰.

	Hembras e inmaduros		Machos adultos	
	Media	DE	Media	DE
	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}$
<b>Ruiz-Cooley <i>et al.</i> (2004)</b>	19.66	0.60	16.82	1.00
<b>Díaz-Gamboa (2003)</b>	19.36	0.61	-	-
<b>Estudio actual</b>	20.12	1.13	17.52	1.07

## **VII. DISCUSIÓN**

En los últimos 10 años el uso de isótopos estables de C y N para evaluar la dieta de cetáceos en vida libre ha cobrado gran importancia (e. g. Gendron *et al.*, 2001; Hooker *et al.*, 2001; Herman *et al.*, 2005; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004; Marcoux *et al.*, 2007). El objetivo de este estudio fue analizar la variación de las señales isotópicas para inferir sobre posibles variaciones en la dieta de los cachalotes del Golfo de California en diferentes áreas, años, temporadas y niveles de la organización social. En conjunto con éstos análisis se evaluaron posibles fuentes de variabilidad isotópica como lo son diferencias en la preservación, protocolo de extracción de lípidos y tipo de tejido. Estos análisis nos permitieron descartar que la variabilidad o las diferencias encontradas en la señal isotópica sean debido a un artificio y no a variaciones reales en los hábitos alimentarios de los cachalotes. Los resultados de este estudio nos revelan la importancia de continuar con este tipo de investigaciones, sobre todo enfocados ahora a la estructura social y los procesos culturales que pudieran explicar la variabilidad encontrada en la dieta de los cachalotes del Golfo de California. Estos factores han sido reportados por Marcoux *et al.* (2007) en el Pacífico Sur como fuentes importantes de la variabilidad de la dieta de los cachalotes.

### **VII. 1 VARIACIÓN EXTRÍNSECA**

#### **VII.1.1 EFECTO DEL PRESERVADOR (DMSO VS CONGELADO)**

Por lo general, las muestras colectadas no son analizadas inmediatamente, por lo que es necesario elegir un medio de preservación. La elección de este medio de preservación depende de los análisis a los que serán sometidas posteriormente las muestras, el tipo de tejido, el costo, la toxicidad y la facilidad en el manejo de las sustancias o el equipo necesario en el campo. Algunos de los preservadores más comunes utilizados en muestras empleadas para el análisis de isótopos estables son el formol, etanol, DMSO y congelado.

Pocos estudios han abordado el efecto de los preservadores en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ó  $\delta^{15}\text{N}$ . La poca información existente se basa en el análisis del efecto del

formol, etanol y el congelamiento (tomado como control) en la señal isotópica de muestras de peces, invertebrados (incluido zooplancton) y algas (Bosley y Wainright, 1999; Sarakinos *et al.*, 2002; Feuchtmayr y Grey, 2003; Rau *et al.*, 2003). En todos los estudios anteriores se concluye que los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  son fácilmente afectados por los preservadores, mientras que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  se mantienen relativamente constantes. Se ha concluido que la única forma de preservación eficaz cuando se requiere analizar ambos isótopos es el congelamiento.

En uno de los pocos estudios con tejidos de cetáceos, Todd *et al.* (1997) analizaron el efecto del DMSO y de diferentes protocolos de extracción de lípidos en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  en músculo y piel de ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*). Ellos reportan un decremento en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  en las muestras de ambos tejidos preservadas en DMSO; este efecto fue contrarrestado con el uso de un protocolo de extracción de lípidos (ultrasonido), el cual no sólo eliminaba los lípidos que están enriquecidos con  $^{12}\text{C}$  sino también los restos de DMSO previo al análisis isotópico.

El uso del protocolo de extracción de lípidos Extracción Asistida por Microondas (MAE) para mitigar el efecto del DMSO en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ó  $\delta^{15}\text{N}$  fue probado por Busquets-Vass (2008) utilizando muestras de piel de ballena azul (*Balaenoptera musculus*). Se demostró que no existían diferencias significativas en los valores de ambos isótopos en muestras preservadas congeladas y en DMSO. En el presente estudio se siguió la misma metodología que Busquets-Vass (2008) para la preparación de las muestras de piel de cachalote, y la tendencia al parecer es similar. Sin embargo, estos resultados deben ser tomados con cautela debido al bajo número de muestras.

De esta forma se encontró que el DMSO es una buena opción para preservar muestras de piel de cachalote utilizadas en el análisis de isótopos estables de C y N, siempre y cuando sea aplicado un mismo protocolo de extracción de lípidos para la remoción de los restos de DMSO. Las muestras preservadas en DMSO además

pueden servir para realizar análisis genéticos y es una sustancia accesible, barata y de fácil manejo en el campo por lo que se recomienda como alternativa al congelamiento.

### **VII.1.2 EFECTO DEL PROTOCOLO DE EXTRACCION DE LIPIDOS (MAE *versus* ULTRASONIDO).**

El que los estudios de isótopos estables sean comparables depende entre otras cosas de la forma en que fueron preparadas las muestras, debido a que mucha de la variabilidad dentro y entre estudios es resultado de que las muestras no son preparadas de forma homogénea (Gannes *et al.*, 1997; Kelly, 2000; Sotiropoulos *et al.*, 2004; Post *et al.*, 2007). Uno de los pasos más importante en la preparación es la extracción de los lípidos, la cual es necesaria debido a que los lípidos presentan un decremento de  $^{13}\text{C}$  y un enriquecimiento con  $^{12}\text{C}$  (DeNiro y Epstein, 1977) y además este proceso ayuda a minimizar los posibles efectos del DMSO en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  cuando se usa este preservador (Todd *et al.*, 1997). Existen una variedad de métodos para la extracción que van desde simples lavados con una solución de cloroformo-metanol 2:1 o 1:1, hasta el uso de aparatos de ultrasonido, microondas, Soxhlet, etc. La elección del método al parecer depende del material y equipo disponible (Kelly, 2000). Hasta ahora, pocos estudios han examinado si los diferentes protocolos tienen un efecto en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  por lo que se comparó entre el método de ultrasonido y el MAE con el objetivo de determinar si los resultados de trabajos previos son comparables.

Se encontraron valores de  $\delta^{13}\text{C}$  significativamente más altos en las muestras procesadas con ultrasonido que las preparadas con el protocolo MAE (Fig. 5). La variación en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  en relación al protocolo de extracción utilizado ya había sido reportada por Todd *et al.* (1997), quienes encuentran una diferencia de 0.4‰ entre Soxhlet y ultrasonido. La diferencia encontrada en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre el método de ultra sonido y el protocolo MAE fue de 1.48‰  $\pm$ 0.33, más de un nivel trófico. Las variaciones entre los métodos podrían deberse a la eficiencia en la extracción de los lípidos. De esta forma se esperarí que aquel con una mayor

cantidad de lípidos extraídos presente los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  más altos, siendo en este caso el ultrasonido el mejor método de extracción. Para confirmar esta hipótesis es necesaria una mayor cantidad de experimentos que incluyan el análisis de muestras a las que no se les hayan extraído los lípidos, la determinación de la cantidad de lípidos en cada una de las muestras antes y después de la extracción y la comparación de varios métodos de extracción. Con estos experimentos además se podría hacer un factor de corrección de modo que los resultados de estudios con diferentes métodos de extracción sean comparables. Las diferencias son de un nivel trófico

Con respecto al  $\delta^{15}\text{N}$  no se obtuvieron diferencias significativas entre los métodos de extracción de lípidos a pesar de que algunos autores mencionan que la extracción química podría causar un fraccionamiento en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (Sotiropoulos *et al.*, 2004; Post *et al.*, 2007). Sin embargo, para descartar si realmente existe un fraccionamiento es necesario analizar una muestra a la cual no se le hayan extraído los lípidos. Si existieran cambios entonces lo ideal sería tomar dos muestras una para el análisis de cada isótopo como lo proponen Sotiropoulos *et al.* (2004); sin embargo, esta opción elevaría el costo del estudio. Una de las posibilidades consideradas como paliativo es la normalización matemática. Esta fue propuesta por McConnaughey y McRoy (1979), y se basa en la relación que existe entre la proporción C:N (se calcula durante el análisis de isotopos estables de C y N) y el porcentaje de lípidos, y en la relación entre el porcentaje de lípidos y un factor de corrección de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  basado en el fraccionamiento  $\delta^{13}\text{C}$  durante la síntesis de lípidos. Post *et al.* (2007) proponen la siguiente formula para la normalización matemática de tejidos de organismos acuáticos:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{normalizado}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{sin tratamiento}} - 3.32 + 0.99 \times \text{C:N}$$

Después de la normalización los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de una muestra son comparables a los obtenidos después de una extracción química de lípidos. Post *et al.* (2007) mencionan que la normalización matemática es la mejor opción siempre y

cuando se comparen organismos de la misma especie y se utilice el mismo tejido. Uno de los principales beneficios de la estandarización matemática es que no representa ningún costo ni tiempo extra una vez hechos los experimentos pertinentes.

Los resultados de esta comparación nos demuestran que debemos ser cuidadosos cuando se quiera hacer comparaciones entre estudios, ya que diferencias en la preparación de las muestras y sobre todo en el protocolo de extracción lípidos utilizado pueden verse reflejadas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ .

## **VII. 2 VARIACIÓN INTRÍNSECA: FUENTES DE VARIACION INDIVIDUAL (ENTRE PIEL DEL MISMO ANIMAL) Y ENTRE CAPAS EPIDERMICAS**

El análisis de los isótopos estables de C y N permite inferir acerca del alimento consumido y asimilado durante el periodo de recambio del tejido analizado (Hobson *et al.*, 1996; Kelly, 2000). En cetáceos se han utilizado barbas y dientes de animales cazados y varados que aportan información de un periodo de tiempo muy amplio (incluso de casi toda su vida) (Hobson y Shell, 1998; Walker y Macko, 1999; Mendes *et al.*, 2007a,b). Recientemente se ha incorporado la piel descamada o piel de biopsias proveniente de animales en vida libre como una opción para inferir la dieta de los cetáceos en periodos más cortos (Gendron *et al.*, 2001).

Existe poca información acerca del tiempo de recambio de la piel en cetáceos, Busquets-Vass (2008) estima que para ballena azul este periodo es de 90 días, mientras que para pequeños odontocetos como el tursión (*Tursiops truncatus*) o la beluga (*Delphinapterus leucas*), Hicks *et al.* (1985) y Aubin *et al.* (1990) estimaron un periodo que oscila entre los 70-75 días. En cuanto al cachalote, se desconoce el periodo de recambio de la piel; sin embargo, se infiere que probablemente sea similar a lo reportado para las otras especies. De este modo y considerando que no se encontraron diferencias significativas entre las capas epidérmicas de piel (incluyendo biopsias y piel descamada) de cachalote se deduce que al menos durante el tiempo de recambio que tiene la piel (entre 70-90 días) los cachalotes estuvieron alimentándose

dentro de una misma red alimenticia regional (indicada por los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ) y de una posición trófica similar (indicada por los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ ). Es decir, el cachalote probablemente se distribuye y se alimenta en el Golfo de California por un lapso mayor que el del periodo de recambio de la piel (por lo menos durante más de tres meses).

### **VII.3 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA EN CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS PROVENIENTES DE DIFERENTES ÁREAS**

Hasta el momento, la mayor parte de la información de la dieta de los cachalotes en el Golfo de California proviene de individuos muestreados en las zonas de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y central. Ruiz-Cooley *et al.* (2004), reportan que las hembras e inmaduros de estas zonas presentan una baja variación en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  lo que hace suponer que los cachalotes podrían tener una dieta similar en todo el Golfo de California. Al incluir un mayor número de muestras y ampliar el área de estudio, no sólo se encontraron diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre las zonas en las que se dividió el Golfo de California, también se observó que existía un gradiente norte-sur entre estas, siendo la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas la que presentaba los valores más altos de ambos isótopos. Existen tres posibles hipótesis para explicar estos resultados:

#### **VII.3.1 Alimentación de presas de diferentes niveles tróficos**

Los valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  registrados en los cachalotes de la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas podrían ser reflejo de una alimentación sobre un nivel trófico más alto (posiblemente calamar gigante de tallas más grandes), mientras que los cachalotes de las otras zonas estarían consumiendo presas de un nivel trófico menor (posiblemente calamares medianos).

Se ha demostrado que el calamar gigante presenta un enriquecimiento en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  con respecto a su talla, calamares más grandes se posicionan en niveles tróficos más altos que los de tallas pequeñas, revelando con esto las

diferencias en sus dietas (Ruiz-Cooley *et al.*, 2006). Al comparar las señales del calamar gigante de tallas grandes de 86-92 cm de LM con las de piel de cachalote de la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas (Tabla 8), se observa un enriquecimiento similar a lo descrito para establecer una relación depredador-presa (0.8-1 ‰ para el  $\delta^{13}\text{C}$  y de 3-5 ‰ para el  $\delta^{15}\text{N}$  según DeNiro y Epstein, 1978; 1981). De forma similar, las señales isotópicas de la piel de cachalote de la zona sur registraron un enriquecimiento similar pero con respecto a los calamares de tallas medianas (17-25 cm de LM) (Tabla 8). Estos resultados coinciden con lo reportado por Ruiz-Cooley *et al.* (2004), quienes con datos de las zonas de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y central, sugieren que los calamares de tallas grandes (40-82 cm de LM) son el componente más importante en la dieta de los cachalotes. En estas zonas se han hecho las mayores estimaciones de biomasa de calamar gigante y es donde se asienta la pesquería de esta especie de calamar, la cual opera sobre individuos de gran tamaño (hembras madurando a los 75 cm y machos a los 53-63 cm de LM; Nevárez-Martínez *et al.*, 2000; Markaida y Sosa-Nishizaki, 2001), por lo que es evidente el uso de este recurso por los cachalotes que se distribuyen en estas zonas. Los valores de enriquecimiento de los cachalotes de la zona central y sur con respecto a los calamares de tallas grandes no corresponden a los esperados entre un depredador y su presa (Tabla 8), indicando así que este componente probablemente no es consumido por los cachalotes de estas zonas o bien tiene una menor importancia en su dieta. En contraste, el calamar gigante de tallas medianas probablemente sea la presa principal de los cachalotes de estas zonas.

Si bien no existe información sobre la distribución diferencial por tallas del calamar gigante en el Golfo de California, Nesis (1970, 1983) indica que las formas grandes del calamar gigante se presentan en áreas de surgencias de aguas frías, como en el área de las Grandes Islas o en la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas, mientras que aguas menos productivas y más cálidas podrían favorecer el desarrollo de calamares adultos de tallas medianas en el resto del Golfo de California (Markaida *et al.*, 2004), tal como lo propuesto para otra especie de la familia Ommastrephidae (Anderson y Rodhouse, 2001)

**Tabla 8.** Enriquecimiento de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de los cachalotes de las zonas del Golfo de California con respecto a la señal isotópica de calamar gigante (Dg) de tallas medianas y grandes (datos de calamar tomados de Díaz-Gamboa, 2003) \* Valores en ‰.

	Dg (17-25 cm LM)		Dg (86-92 cm LM)	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
<b>Santa Rosalía-San Pedro</b>	2.54	4.50	1.80	2.86
<b>Mártir-Guaymas</b>				
<b>Central</b>	1.76	3.77	1.02	2.13
<b>Sur</b>	1.20	2.87	0.46	1.23

### VII.3.2 Provincias isotópicas en el Golfo de California

El Golfo de California presenta características hidrográficas, climáticas y topográficas muy complejas que podrían originar áreas con señales isotópicas específicas que a su vez se reflejarían desde la base de la cadena hasta depredadores tope como el cachalote.

Hasta el momento existen pocos estudios de la geoquímica del Golfo de California y en particular de las señales isotópicas de C y N y de como éstas se ven afectadas por lo diferentes procesos oceanográficos que se presentan en el área (Lluch-Cota *et al.*, 2007). En general, el Golfo de California se caracteriza por presentar un enriquecimiento en la cantidad de nutrientes en la capa superficial, la mayor parte de los cuales provienen del reciclamiento del MOP y son transportados por surgencias generadas por vientos o por corrientes de marea (Álvarez-Borrego, 1983; Badán-Dangón *et al.*, 1985). En cuanto a isótopos estables, Altabet *et al.* (1999) en un análisis del  $\delta^{15}\text{N}$  en sedimentos de fondo y del  $\text{NO}_3^-$  en la zona sub-eufótica mencionan que el Golfo de California presenta un enriquecimiento isotópico como resultado de la desnitrificación en aguas subóxicas subsuperficiales, además presenta un gradiente latitudinal con valores más altos hacia la región norte del Golfo. Este gradiente también fue registrado en el calamar gigante, presa principal del cachalote en el Golfo (Ruiz-Cooley *et al.*, 2004), donde calamares de

tallas grandes capturados en la zona sur registraron valores de  $\delta^{15}\text{N}$  más bajos que los que se capturaron en la zona de las Grandes Islas (Díaz-Gamboa y Gendron, 2007). Siguiendo esta tendencia, es probable que de forma similar, la variación de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en la piel de cachalotes recolectada en las diferentes áreas, sea un efecto del enriquecimiento desde la base de la cadena trófica. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Porras-Peters *et al.* (2008) para otro depredador tope, el lobo marino de California, donde se encontró un gradiente similar en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  entre las loberas del Golfo de California.

Esta idea, sin embargo, implica que el calamar gigante no efectuaría grandes movimientos y que el cachalote se alimenta en una zona específica del Golfo de California, de esta forma las diferencias isotópicas desde la base se reflejarían en los niveles tróficos más altos. Sin embargo, tanto el calamar gigante como los cachalotes del Golfo de California se caracterizan por su constante movimiento tridimensional (Davis *et al.*, 2006; Gilly *et al.*, 2006) así como por su capacidad para realiza grandes migraciones (Ehrhardt *et al.*, 1983; Jaquet *et al.*, 2003), por lo que se sugiere que otros factores ecológicos descritos más adelante pudieran estar influyendo de manera importante en la dieta de los cachalotes del Golfo de California.

### **VII.3.3 Importancia de otras presas**

Otra variable a tomar en cuenta en la explicación de las diferencias en las señales isotópicas es la inclusión e importancia de otras presas en la alimentación de los cachalotes. Si bien los cachalotes en el Golfo de California se alimentan de calamar gigante, es posible que complementen su dieta con otras presas según el área donde se encuentran.

Hasta hace algunos años se pensó que el cachalote en el Pacífico Oriental Tropical podría tener una dieta monoespecífica debido a la gran abundancia del calamar gigante (Clarke *et al.*, 1988). Sin embargo, análisis de heces (Smith y Whitehead, 2000) e isótopos estables (Marcoux *et al.*, 2007) en el Pacífico Sur establecieron que una de las principales presas en estas áreas es el calamar

*Histioteuthis* sp. Esta especie también se distribuye en el Golfo de California por lo que no se descarta que el cachalote pudiera estar complementando su dieta con ésta o con otras especies de calamar y por tanto podría aportar variabilidad a su señal isotópica. La técnica de isótopos estables no permite concluir detalladamente sobre las presas consumidas por lo que es necesario determinar las señales isotópicas de otras especies de calamar para establecer una posible relación depredador-presa. Una alternativa también es el uso de otras técnicas como el análisis de ácidos grasos (Budge *et al.*, 2006) o análisis moleculares en heces (Deagle *et al.*, 2005) que nos permitirán identificar si los cachalotes en el Golfo de California tienen una dieta monoespecífica y así determinar si la variación de la señales isotópicas encontradas se debe a la dieta u a otros factores.

#### **VII.3.4 ¿Cuál factor explica mejor la variabilidad isotópica entre áreas?**

La principal dificultad al utilizar isótopos estables de C y N para inferir acerca de los hábitos alimentarios del cachalote, es evaluar el grado de contribución de cada uno de los factores (en este caso la talla del calamar gigante, áreas e importancia de otras presas) a la variabilidad de la señal isotópica mostrada. Si bien en este estudio no se puede evaluar con precisión la contribución de cada uno de estos factores, existe información suficiente que sugiere que la talla del calamar gigante o el consumo de otras presas podría ser la fuente de la gran variabilidad mostrada en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  por los cachalotes del Golfo de California.

Las diferencias en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  registrados en el calamar gigante de tallas grandes y medianas son mucho mayores a las registradas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en el MOP de la zona sub-eufótica y en las trampas de sedimentos de diferentes áreas del Golfo de California (Tabla 9). De esta forma estos datos sugieren que la talla del calamar gigante sería un factor más importante en la explicación de la variabilidad de la señal isotópica de los cachalotes que el área en la que se alimenta. Aun faltaría evaluar la señal isotópica de otras presas, sin embargo se conoce que el

cachalote puede alimentarse de presas que varían en su tamaño y posiblemente en su nivel trófico por lo que se esperaría que esto influya en la variabilidad de los valores de los isótopos de C y N (Whitehead, 2003)

**Tabla 9.** Diferencias en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de calamar gigante (Dg) de talla mediana y grande (Datos tomados de Díaz-Gamboa (2003)) y entre las áreas del Golfo de California (Datos tomados de Altabet *et al.* (1999)). \* Valores en ‰.

	$\delta^{15}\text{N}$		$\delta^{15}\text{N}$ en MOP de la zona sub-eufótica	$\delta^{15}\text{N}$ en trampas de sedimento
Dg grande (LM 86-92)	17.8	Depresión de Guaymas	10	11.1
Dg mediano (LM 17-25)	16.1	Depresión del Carmen	9.3	10.4
Diferencia	1.6	Diferencia	0.7	0.7

#### VII.4 VARIACIÓN INTERANUAL DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS

A lo largo del periodo de estudio 2000-2005 no se registraron diferencias significativas excepto en el año 2000, el cual registró valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  significativamente más bajos que los otros años. Las muestras del año 2000 pertenecen a un grupo de cachalotes distribuidos al norte de la Isla San José, un sitio donde se observan cachalotes con regularidad. En este estudio se analizó la señal isotópica de otros grupos de cachalotes distribuidos en la misma área en diferentes años (2002 y 2005) y en ninguno de los casos se registró una señal con valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  tan bajos como en los cachalotes del año 2000 (Tabla 10).

Por otra parte, al analizar el enriquecimiento de la señal isotópica de los cachalotes del año 2000 con respecto a la del calamar gigante de tallas medianas y grandes (datos tomados de Díaz-Gamboa, 2003) no se encontraron valores similares a los esperados entre un depredador y su presa (tallas medianas  $\delta^{13}\text{C}=0.58$  y

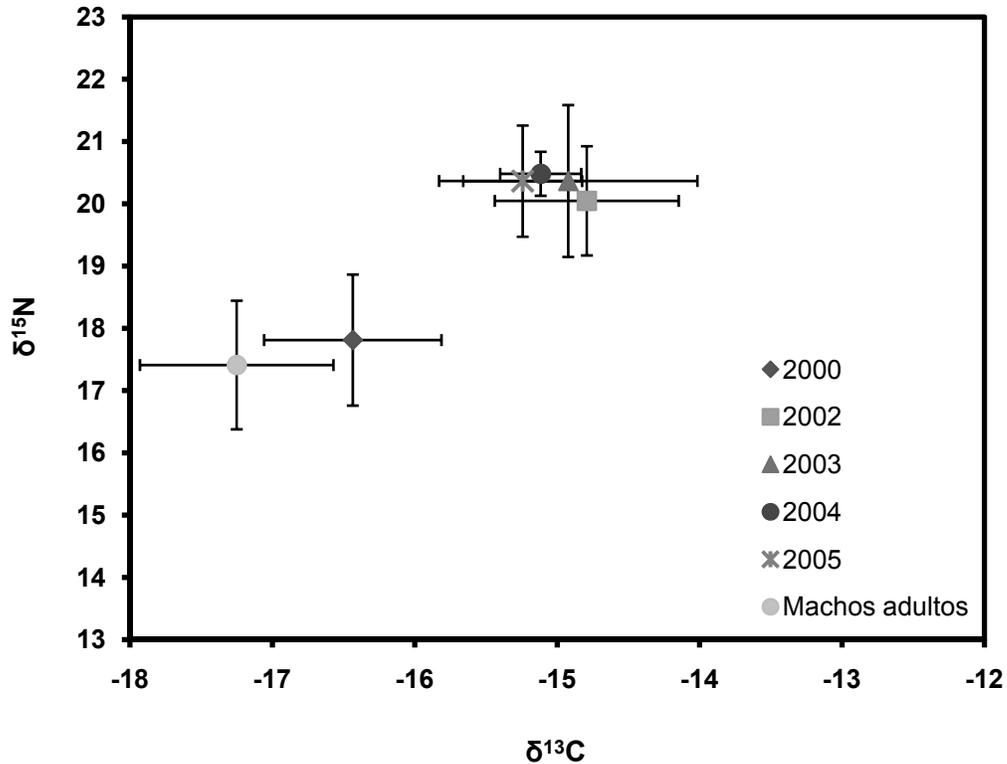
$\delta^{15}\text{N}=1.70$  y tallas grandes  $\delta^{13}\text{C}=-0.16$  y  $\delta^{15}\text{N}=0.06$ ). Esto sugiere que la señal de estos cachalotes no representa el alimento consumido en el Golfo de California sino probablemente el de otra área. Teniendo en mente que el periodo de recambio de la piel en cetáceos es aproximadamente de 70-90 días (Hicks *et al.*, 1985; Aubin *et al.*, 1990; Busquets-Vass, 2008), es de esperarse que si estos cachalotes han permanecido en el Golfo de California durante un periodo menor a este, aún no hayan registrado la señal del alimento del Golfo de California y por lo tanto todavía presenten la señal del alimento consumido en otra área. Debido a la poca información sobre la migración de los cachalotes, sólo se tienen algunas foto-recapturas con Galápagos (Jaquet *et al.*, 2003), la procedencia del grupo de cachalotes del años 2000 es incierta.

**Tabla 10.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de los grupos de cachalote distribuidos en el norte de Isla San José. \* Media y desviación estándar (DE) en ‰.

	Media $\delta^{13}\text{C}$	DE $\delta^{13}\text{C}$	Media $\delta^{15}\text{N}$	DE $\delta^{15}\text{N}$
<b>Grupo 2000</b>	-16.43	0.62	17.81	1.05
<b>Grupo 2002</b>	-14.97	0.46	19.45	0.65
<b>Grupo 2005</b>	-15.58	0.46	19.80	0.50

Es interesante notar que la señal isotópica de los cachalotes del año 2000 presenta valores similares a los registrados por los machos adultos en el Golfo de California (Fig. 16) por lo que no se descarta la posibilidad de que se trate de un grupo de solteros, ya que los machos inmaduros pueden ser confundidos con hembras adultas pues aún no es tan evidente el dimorfismo en cuanto a las tallas. En el Golfo de California los machos inmaduros no presentan diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  con las hembras con las que están asociados, mientras que los machos adultos presentan una señal totalmente diferente (Ruiz-Cooley *et al.*, 2004). Se desconocen prácticamente todos los aspectos relacionados con estos grupos machos inmaduros, incluyendo si existe un cambio en su dieta cuando se separan de los grupos de hembras. Por otro lado, también existe la posibilidad de que la similitud

en las señales isotópicas entre el grupo del año 2000 y los machos adultos sea el reflejo de la zona de procedencia.



**Fig. 16.** Comparación de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (en ‰) del periodo de estudio y los machos adultos en la que se puede observar la similitud entre estos y los cachalotes del año 2000.

### VII.5 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA DE CACHALOTES HEMBRAS E INMADUROS ENTRE TEMPORADA FRÍA Y CÁLIDA

La mayor parte del esfuerzo para el estudio de los cachalotes se ha llevado a cabo en los primeros seis meses del año por lo que hasta ahora, se desconocía si existía una variación en la dieta de los cachalotes a lo largo del año. Al no registrarse diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en ambas temporadas, los resultados sugieren que los cachalotes se están alimentando de organismos que pertenecen a una misma red trófica local (indicada por los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ; Kelly 2000) y de una posición trófica similar (indicada por los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ ) durante todo

el año. Debido al bajo número de muestras analizado en la temporada cálida estos resultados sólo son aplicables a la zona de Santa Rosalía-San Pedro Mártir-Guaymas y a parte de la zona central. Es necesaria la recopilación de un mayor número de muestras en esta época en todo el Golfo de California para determinar si existe una variación en la dieta en las diferentes zonas entre las temporadas.

#### **VI.6 VARIACIÓN DE LA SEÑAL ISOTÓPICA EN LOS DIFERENTES NIVELES DE LA ESTRUCTURA SOCIAL DEL CACHALOTE**

A pesar de que pocos grupos contaban con un tamaño de muestras representativo ( $n = 5$  de acuerdo al utilizado por Marcoux *et al.*, 2007) se pudieron observar ciertas tendencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ . Algunos de los grupos presentaron una baja variabilidad en la señal de ambos isótopos (Fig. 11), lo que era de esperarse tomando en cuenta que los individuos de un grupo viajan juntos y probablemente se alimenten de presas similares por lo que presentarían señales isotópicas similares. Sin embargo, también se encontraron grupos que presentaban una gran variabilidad en ambos isótopos. En el Golfo de California los grupos de cachalotes pueden formar grandes agregaciones (Jaquet y Gendron, 2002) que dificultan su delimitación, de esta forma es posible que las diferencias en la señales isotópicas se deban a que hay muestras de individuos de más de un grupo. Las diferencias también podrían registrarse a un nivel más bajo de la estructura social, donde los individuos con una señal isotópica similar pertenecerían a una misma unidad social los cuales siempre viajan juntos (Whitehead y Weilgart, 2000), mientras que los individuos con una señal diferente pertenecerían a otra unidad, las cuales no necesariamente tendrían la misma señal dado que sólo están juntas por periodos de días (Whitehead 2003). Estos resultados coinciden con los reportados por Marcoux *et al.* (2007) para grupos de cachalotes en el Pacífico Sur, quienes encuentran una alta variabilidad sobre todo en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ .

En la comparación de los grupos con un  $n > 5$  se encontró que los valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  correspondían a un grupo de cachalotes distribuido cerca de la Isla San Pedro Mártir, este grupo también fue el único que presentó diferencias

significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  con dos de los tres grupos con los que se comparó. Es notorio que algunas muestras del grupo con el que no exhibió diferencias significativas (en ambos isótopos) fueron colectadas cerca de la Isla San Pedro Mártir. Las discrepancias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  sugieren una posible selección en el área de alimentación por parte de los grupos, en donde las diferencias en las características biogeoquímicas y de la base de la cadena trófica de cada área se reflejarían en la señal de los cachalotes (Kelly, 2000). Marcoux *et al.* (2007), en un análisis de la dieta de los cachalotes en el Pacífico Sur reportan diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  a nivel de grupo y clan, las que atribuye a la interacción entre la selección del hábitat y la cultura. Grupos que pertenecen a un clan (e.g. clan “corto”) con una distribución más costera o bentónica tendrían valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$  que los grupos de otro clan (e.g. clan “regular”) con una distribución más lejana a la costa o con influencia pelágica (Marcoux *et al.*, 2007). En el Golfo de California se han registrado grupos del clan “corto” (Álvarez-Torres, 2005) y en este estudio se analizaron algunas muestras (Fig. 12); sin embargo, debido al tamaño de muestra poco representativo no es posible reconocer si existe el mismo patrón en los valores de los isótopos observado en el Pacífico Sur.

Por otra parte, no se puede descartar que la variación en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre grupos de cachalotes del Golfo de California esté originada por la selección en la talla del calamar consumido, en cuyo caso se esperaría que los grupos con las señales isotópicas más altas se alimenten de calamares de tallas mayores, reflejando así la correlación positiva entre la talla del calamar y su señal isotópica (Ruiz-Cooley *et al.*, 2006).

En cuanto a las variaciones en la dieta a nivel de clan, la escasa información no permitió establecer la importancia de los procesos culturales en las estrategias de alimentación de los cachalotes del Golfo de California como se hizo con los del Pacífico Sur. Sin embargo, el Golfo de California sigue siendo el sitio ideal para estudiar estos procesos, por lo que es necesario un mayor esfuerzo para avanzar en el conocimiento de los procesos socio-culturales en los cachalotes.

## VII.7 HEMBRAS E INMADUROS VS MACHOS ADULTOS

Diversos autores utilizando técnicas como el análisis de contenido estomacal o isótopos estables han registrado diferencias en la dieta entre machos adultos y grupos de hembras y juveniles (Clarke 1980; Clarke *et al.*, 1988; Clarke *et al.*, 1993; Best, 1999; Flinn *et al.*, 2002; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004; Marcoux 2005; Mendes *et al.*, 2007a, b). Con el presente análisis se confirman las diferencias significativas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  entre machos adultos y los grupos de hembras e inmaduros previamente reportadas por Ruiz-Castro (2002) para el Golfo de California y coinciden con los registrado por Marcoux (2005) para el Pacífico Sur, ambos con valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  significativamente más bajos para los machos adultos que los registrados por los grupos de hembras e inmaduros (Tabla 11). En contraste, por lo general se ha asociado a los machos adultos a una alimentación de un nivel trófico superior al de las hembras o bien a presas de mayor tamaño (Best, 1999; Mendes *et al.*, 2007a, b). Sin embargo aquí se pone en evidencia que al menos en estas áreas de reproducción, los cachalotes podrían alimentarse de un nivel trófico menor, de presas con tallas menores o de otra trama trófica, aunque según Mendes *et al.* (2007b) la alimentación de los machos adultos en bajas latitudes no es lo suficientemente importante para que se originen cambios en su señal isotópica, por lo que probablemente y de acuerdo con Ruiz-Cooley *et al.* (2004) las diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  se deban a que la piel de los machos adultos refleja el alimento consumido en otras áreas.

Una situación que no se había registrado en el Golfo de California es el traslape de la señal isotópica de machos adultos y hembras e inmaduros. El traslape no sólo se presentó en el grupo de cachalotes del año 2000, cuyo caso ya se discutió (ver VII.4 Variación interanual de la señal isotópica de cachalotes hembras e inmaduros), si no que incluye individuos de otros años y de las tres áreas en las que se dividió el Golfo de California. Basados en esta información se fortalece la idea de que posiblemente estos cachalotes aun no hayan pasado en el Golfo de California un periodo de tiempo suficiente para reflejar el alimento consumido aquí, por lo que la señal isotópica correspondería al alimento de otras áreas. Se tiene el registro de

movimientos de cachalotes hacia el Pacífico Sur específicamente a las Islas Galápagos (Jaquet *et al.*, 2003), pero no se descarta que los cachalotes del Golfo de California también pudieran provenir de áreas en latitudes más altas, en donde al menos en la época de caza se podían observar machos adultos y grupos de hembras e inmaduros alimentándose en áreas tan al norte como las costas de la Columbia Británica en Canadá (Flinn *et al.*, 2002).

**Tabla 11.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de los grupos de hembras e inmaduros y machos adultos en el Pacífico.\* Media y desviación estándar (DE) en ‰.

		$\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{15}\text{N}$			
		n	Media (DE)	Min	Max	Media (DE)	Min	Max
<b>Ruiz-Castro (2002)</b>		7	-16.60 (0.69)	-18.00	-15.91	16.82 (1.00)	14.62	17.54
<b>Marcoux (2005)<sup>†</sup></b>	<b>Machos adultos</b>	9	-16.13 (1.01)	-17.58	-14.23	15.28 (0.68)	14.68	16.57
<b>Estudio actual</b>		22	-17.25 (0.68)	-18.64	-16.28	17.41 (1.03)	15.40	19.08
<b>Ruiz-Castro (2002)</b>		36	-13.83 (0.61)	-14.77	-12.8	19.64 (0.93)	18.45	20.46
<b>Marcoux (2005)</b>	<b>Hembras e inmaduros</b>	106	-15.92 (0.68)	-17.3	-14.55	17.11 (3.58)	8.54	22.31
<b>Estudio actual</b>		112	-15.05 (0.83)	-17.68	-13.84	20.06 (1.21)	16.03	22.59

Nota: <sup>†</sup> muestras colectadas en el Pacífico Sur

Este traslape entre machos adultos y grupos de hembras e inmaduros ya había sido reportado por Marcoux (2005) en el Pacífico Sur, en donde algunos grupos de hembras e inmaduros de Galápagos y la parte occidental del Pacífico Sur presentaban una señal isotópica similar o incluso menor a la de los machos adultos;

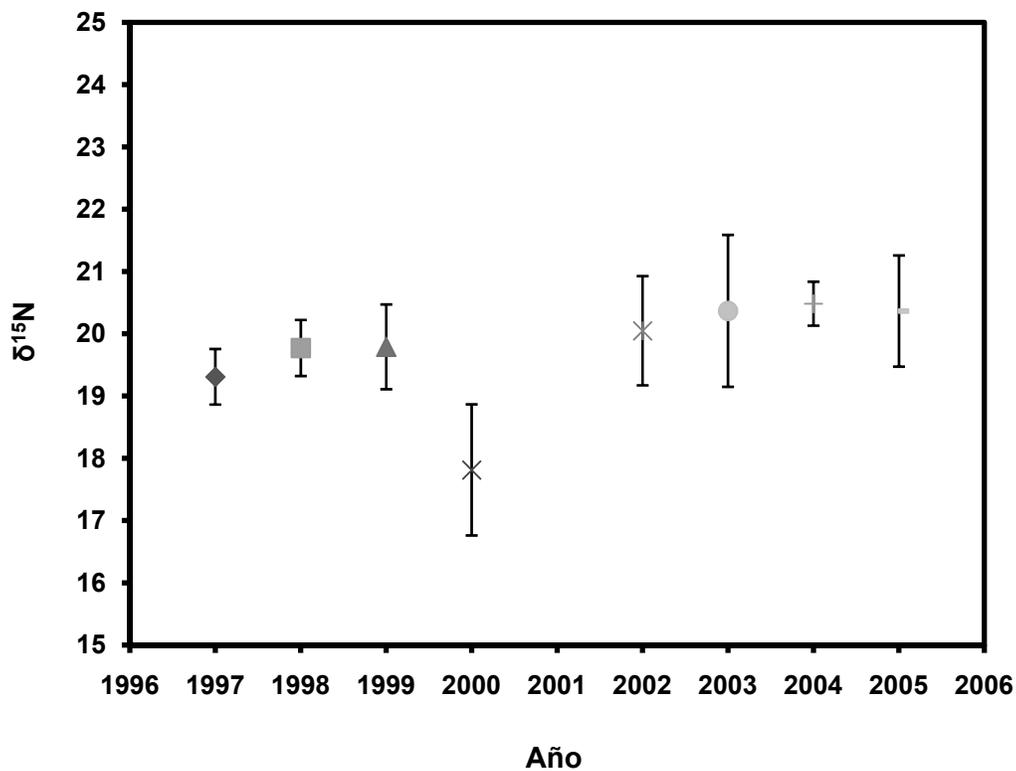
sin embargo, en este estudio no se ofrece ninguna posible explicación de estos resultados.

## VII.8 COMPARACIÓN CON RESULTADOS ANTERIORES

Hasta antes de este estudio sólo se contaba con información de la señal isotópica de los cachalotes del Golfo de California proveniente de los trabajos de Ruiz-Cooley *et al.* (2004) y de Díaz-Gamboa (2003). El primero de estos trabajos estableció la relación depredador-presa entre los grupos de hembras e inmaduros y el calamar gigante mientras que el segundo reveló la similitud de la dieta de los tursiones oceánicos y los grupos de cachalotes de hembras e inmaduros. Uno de los inconvenientes de estos estudios es el tamaño de muestras (Tabla 6). La dificultad y el costo para obtener muestras de cetáceos en vida libre hace que muchos de los estudios cuenten con un número de muestras reducido y por lo tanto, si algunas de sus conclusiones son extrapoladas pueden llegar a ser inexactas. Al incluir un mayor número de muestras se observó como la variabilidad de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  tanto en grupos de hembras e inmaduros y machos adultos era mayor de lo reportado en los otros estudios. Esta variabilidad como ya se discutió en secciones anteriores incluía diferencias entre las áreas en las que se dividió el Golfo de California, interanuales y variaciones que probablemente estén relacionadas con el efecto de la compleja estructura social de la especie, la cual influye en los hábitos alimentarios particulares de cada clan (*e. g.* la explotación de diferentes ambientes). Los valores más altos de  $\delta^{15}\text{N}$  registrados en este estudio se deben al análisis de un mayor número de muestras que pertenecen a un área más amplia que la muestreada en estudios previos.

Con la integración de la información de los valores isotópicos de los estudios previos y el actual se tiene información de casi 10 años. A excepción del año 2000, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  presentan, sin ser significativa, una tendencia a incrementarse (Fig. 17). Hasta el momento no hay una explicación plausible que indique el origen de este enriquecimiento, será interesante continuar con el monitoreo de la señal

isotópica de los cachalotes del Golfo de California para tratar de relacionar este incremento con cambios fisicoquímicos o biológicos en el ecosistema.



**Fig. 17.** Integración de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (en ‰) de grupos de cachalotes hembras e inmaduros del Golfo de California. (Datos de 1997-1999 tomados de Ruiz-Cooley *et al.*, 2004; Datos de 2000-2005 son del estudio actual; el año 2002 incluye las muestras analizadas por Díaz-Gamboa 2003).

## VIII. CONCLUSIONES

- Es posible el análisis de muestras preservadas tanto en DMSO como congeladas sin que esto implique una fuente de variabilidad al estudio, en tanto que las muestras preservadas en DMSO sean sometidas a un proceso de extracción de lípidos. Sin embargo, no serán comparables los resultados de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre estudios que hayan utilizado diferentes protocolos de extracción de lípidos (ultrasonido y MAE) en la preparación de las muestras.
- La gran variabilidad de la señal isotópica de C y N refleja una variación en los hábitos alimentarios de los cachalotes del Golfo de California, contrastando con la información existente. Estas diferencias podrían originarse debido a las tallas del calamar consumido y/o en el tipo de presas.
- La señal isotópica es significativamente mas alta en los cachalotes del área de San Pedro Mártir en ambas temporadas y se interpreta de tres formas:
  - Los cachalotes se alimentan de calamar de tallas más grandes que en el resto del Golfo.
  - Esta área presenta procesos oceanográficos que se reflejan en un mayor enriquecimiento de la señal isotópica de C y N del calamar gigante y el cachalote.
  - Los cachalotes de la zona central y sur complementan sus dietas con otras presas.
- La diferenciación en las señales isotópicas entre grupos de cachalotes sugiere que la estructura social influye en la dieta ya sea en el consumo de calamar de diferentes tallas o distribuidos en diferentes áreas del Golfo de California.
- El traslape de la señal isotópica de machos y grupos de hembras e inmaduros podría indicar el cambio y la adquisición de la señal del Golfo

## **IX. RECOMENDACIONES**

- Es necesario un muestreo sistemático en todo el Golfo de California que incluya desde la base de la cadena trófica hasta el cachalote con el objetivo de tener una mapa isotópico que ayude a revelar cuales son los factores que determinan la variabilidad de la señal isotópica.
- Es importante Incluir las señales isotópicas de otras presas para tratar de dilucidar cual es la importancia de estas en la alimentación de los cachalotes en el Golfo de California y la variabilidad isotópica encontrada.
- Es necesario complementar los estudios de isótopos estables con otro tipo de herramientas como el análisis de ácidos grasos o análisis moleculares en heces para lograr un mejor entendimiento de la alimentación de los cachalotes en el Golfo de California.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Altabet, M. A., C. Pilskaln, R. Thunell, C. Pride, D. Sigman, F. Chavez y R. Francois. 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep-Sea Res.* 46:655–679.
- Álvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California. En: Pp 427-449, Ketchum, B. K. (Ed.). *Ecosystems of the world, estuaries and enclosed seas.* Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Álvarez-Borrego, S. y J. R. Lara-Lara. 1991. The Physical environment and primary productivity of the Gulf of California. En: Pp 47:555-567, *The Gulf and Peninsular Provinces of the Californias.* Memoirs American Association Petroleum Geologist.
- Álvarez-Torres, A. M. 2006. Distinción de clanes de cachalote (*Physeter macrocephalus*) en el Golfo de California, mediante comparación de repertorios de codas. CICIMAR-IPN. Tesis de Maestría. 92 pp.
- Amos, W. y A.R. Hoelzel. 1991. Long- term preservation of whale skin for DNA analysis. Report to the International Whaling Commission (Special Issue 13). 99-103.
- Anderson, C. I. H. y P. G. Rodhouse. 2001. Life cycles, oceanography and variability: Ommastrephid squid in variable oceanographic environments. *Fish. Res.* 54: 133–143.
- Arnbom, T. 1987. Individual identification of sperm whales. Reports of the International Whaling Commission. 37:201-204.
- Aubin, D. J. St., T. G. Smith y J. R. Geraci. 1990. Seasonal epidermal molt in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Can. J. Zool.* 68:359-367.
- Backus, R.H., W.E. Schevill. 1966. *Physeter* clicks. En: Pp 510-527, Norris K. S. (Ed). *Whales, dolphins, and porpoises,* University of California Press, Berkeley.
- Badán-Dangón, A., C. J. Koblisnky y T. Baumgartner. 1985. Spring and summer in the Gulf of California: observations of surface thermal patterns. *Oceanol. Acta.* 8(1): 13-22.
- Best, P. B. 1999. Food and feeding of sperm whales *Physeter macrocephalus* off the west coast of South Africa. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 21:393–413

- Bosley, K.L. y S. C. Wainright. 1999. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios ( $^{15}\text{N}:$  $^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}:$  $^{12}\text{C}$ ) of two species of marine animals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56:2181–2185.
- Budge, S. M., S. J. Iverson y H. N. Koopman. 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation. *Mar. Mamm. Sci.* 22: 759-801.
- Busquets-Vass. 2008. Variabilidad de isótopos estables de nitrógeno y carbono en piel de ballena azul (*Balaenoptera musculus*). CICIMAR-IPN. Tesis de Maestría. 84 pp.
- Caldwell, D., M. Caldwell y D. Rice. 1966. Behavior of the sperm whale, *Physeter catodon* L. En: Pp 677-717, Norris K. (Ed.). Whales, Dolphins, and Porpoises. University Of California Press. USA.
- Clarke, M. R. 1976. Observations on sperm whale diving. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 56:809-810.
- Clarke, M. R. 1980. Cephalopoda in the diet of sperm whales of the southern hemisphere and their bearing on sperm whale biology. *Discovery Rep.* 37:1-324.
- Clarke, M. R. 1996. Cephalopods as prey. III. Cetaceans. *Philos. Trans. R. Soc. B.* 351:1053–1065.
- Clarke, M. R., H. R. Martins y P. Pascoe. 1993. The diet of sperm whales (*Physeter Macrocephalus* Linnaeus 1758) off the Azores. *Philos. Trans. R. Soc. B.* 339:67–82.
- Clarke, R., O. Paliza y A. Aguayo. 1988. Sperm whales of the Southeast Pacific. Part IV. Fatness and feeding. *Invest. Cetacea.* 21:54-195.
- Davis, R. W., N. Jaquet, D. Gendron, U. Markaida, G. Bazzino y W. Gilly. 2007. Diving behavior of sperm whales in relation to behavior of a major prey species, the jumbo squid, in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 333: 291–302.

- Deagle, B. E., D. J. Tollit, S. N. Jarman, M. A. Hindell, A. W. Trites y N. J. Gales. 2005. Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. *Mol. Ecol.* 14:1831-1842.
- DeNiro, M.J. y S. Epstein. 1977. Mechanisms of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science.* 197: 261-263.
- DeNiro, M. J. y S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 42:495-506.
- DeNiro, M. J. y S. Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 45:341-351.
- Díaz-Gamboa, R. E. 2003. Diferenciación entre tursiones *Tursiops truncatus* costeros y oceánicos en el Golfo de California por medio de isótopos estables de carbono y nitrógeno. CICIMAR-IPN. Tesis de Maestría. 62 pp.
- Díaz-Gamboa, R. E. y D. Gendron. 2007. Trophic relationships of teutophagous cetaceans and the Jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California. Abstracts 1st GLOBEC CLIOTOP Symposium. La Paz, B.C.S., México.
- Ehrhardt, N. M., P. S. Jacquemin, B. F. García, D. G. González, B. J. M. López, C. J. Ortiz y N. A. Solís. 1983. On the fishery and biology of the giant squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, Mexico. En: 231: 306–340, Caddy J. F. (Ed.). *Advances in Assessment of World Cephalopod Resources.* FAO Fish. Tech. Pap.
- Feuchtmayr, H. y J. Grey. 2003. Effect of preparation and preservation procedures on carbon and nitrogen stable isotope determinations from zooplankton. *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* 17:2605-2610.
- Flinn, R., A. W. Trites, E. J. Gregr y R. I. Perry. 2002. Diets of fin, sei, and sperm whales in British Columbia: an analysis of commercial whaling records, 1963–1967. *Mar. Mamm. Sci.* 18:663–679.
- Gannes, L. Z., D. M O'brien y C. Martinez del Rio. 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology.* 78:1271-1276.

- Gendron, D. 2000. Family Physeteridae. En: Pp 635-637, Álvarez-Castañeda S. T. y J. L. Patton (Eds.). Mamíferos del noreste de México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C.
- Gendron, D., S. Aguíñigan y J. D. Carriquiry. 2001.  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  in skin biopsy samples: a note on their applicability for examining the relative trophic level in three rorqual species. *J. Cetacean Res. Manag.* 3:41–44
- Gilly, W. F., C. A. Elliger, C. A. Salinas, S. Camarillo-Coop, G. Bazzino y M. Beman. 2006. Spawning by jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the San Pedro Mártir Basin, Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 313: 125–133.
- Guerrero-de la Rosa, F. 2006. Análisis de la frecuencia y tipos de marcas en la aleta caudal de cachalotes del Golfo de México y Golfo de California. Tesis de Licenciatura. UABCS. 54 pp.
- Herman, D. P., D. G. Burrows, P. R. Wade, J. W. Durban, C. O. Matkin, R. G. LeDuc, L. G. Barrett-Lennard y M. M. Krahn. 2005. Feeding ecology of eastern North Pacific killer whales *Orcinus orca* from fatty acid, stable isotope, and organochlorine analyses of blubber biopsies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 302:275–291.
- Hicks, B. D., D. J. St. Aubin, J. R. Geraci y W. R. Brown. 1985. Epidermal growth in the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. *J. Invest. Dermatol.* 85:60-63.
- Hobson, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia.* 120:314-326.
- Hobson, K. A. y D. M. Schell. 1998. Stable carbon and nitrogen isotope patterns in baleen from eastern Arctic bowhead whales (*Balaena mysticetus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 2601–2607.
- Hobson, K. A., J. F. Piatt y J. Pitocchelli. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *J. Anim. Ecol.* 63:786-798.
- Hobson, K. A., D. M. Schell, D. Renouf y E. Noseworthy. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: Implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *J. Fish. Aquat. Sci.* 53:528-533.

- Hooker, S. K., S. J. Iverson, P. Ostrom y S. C. Smith. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable isotope analyses of biopsy samples. *Can. J. Zool.* 79:1442–1454
- IUCN 2007. 2007 IUCN Red List of Threatened Species. En: <http://www.iucnredlist.org>.
- International Whaling Commission. 2008. Commercial whaling catch limits. En: <http://www.iwcoffice.org/conservation/catches.htm>
- Jaquet, N. y D. Gendron. 2002. Distribution and relative abundance of sperm whales in relation to key environmental features, squid landings and the distribution of other cetacean species in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Biol.* 141:591-601.
- Jaquet, N., D. Gendron y A. Coakes. 2003. Sperm whale in the Gulf of California: residency, movements, behavior, and the possible influence of variation in food supply. *Mar. Mamm. Sci.* 19:545-562.
- Kaehler, S. y E. A. Pakhomov. 2001. Effects of storage and preservation on the  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  signatures of selected marine organism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 219:299-304.
- Kawakami, T. 1980. A review of sperm whale food. *Sci. Rep. Whales Res. Inst.* 32:199-218.
- Kelly, J. F. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can. J. Zool.* 78:1–27.
- Lettevall, E., C. Richter, N. Jaquet, E. Slooten, S. Dawson, H. Whitehead, J. Christal y P. McCall Howard. 2002. Social structure and residency in aggregations of male sperm whales. *Can. J. Zool.* 80: 1189-1196.
- Lluch-Cota, S. E, E. A. Aragón-Noriega, F. Arreguín-Sánchez, D. Aurióles-Gamboa, J. J. Bautista-Romero, R. C. Brusca, R. Cervantes-Duarte, R. Cortés-Altamirano, P. Del-Monte-Luna, A. Esquivel-Herrera, G. Fernández, M. E. Hendrickx, S. Hernández-Vázquez, H. Herrera-Cervantes, M. Kahru, M. Lavín, D. Lluch-Belda, D. B. Lluch-Cota, J. López-Martínez, S. G. Marinone, M. O. Nevárez-Martínez, S. Ortega-García, E. Palacios-Castro, A. Parés-Sierra, G.

- Ponce-Díaz, M. Ramírez-Rodríguez, C. A. Salinas-Zavala, R. A. Schwartzlose, A. P. Sierra-Beltrán. 2007. Prog. Oceanogr. 73:1–26.
- McConnaughey T. y C. P. McRoy .1979. Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea. Mar. Biol. 53:257–262.
- Marcoux, M. 2005. Vocalizations, diet and fitness among acoustic clans of sperm whales (*Physeter macrocephalus*). Dalhousie University. Tesis de Maestría. 70 pp.
- Marcoux, M., H. Whitehead y L. Rendell. 2007. Sperm whale feeding variation by location, year, social group and clan: evidence from stable isotopes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 333: 309–314.
- Markaida, U., C. Quiñónez-Velázquez y O. Sosa-Nishizaki. 2004. Age, growth and maturation of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California Mexico. Fish. Res. 66: 31–47.
- Markaida U. y O. Sosa-Nishizaki. 2001. Reproductive biology of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, 1995–1997. Fish. Res. 54: 63–82.
- Markaida, U. y O. Sosa-Nishizaki. 2003. Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda:Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. J. Mar. Biol. Ass. 83:507-522.
- Mendes, S., J. Newton, R. J. Reid, A. Frantzis y G. J. Pierce. 2007a. Stable isotope profiles in sperm whale teeth: variations between areas and sexes. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 87:621–627.
- Mendes, S., J. Newton, R. J. Reid, A. F. Zuur y G. J. Pierce. 2007b.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  profiling of sperm whale teeth reveals ontogenetic movements and trophic ecology. Oecologia. 151:605–615.
- Minagawa, M. y E. Wada. 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. Geochim Cosmochim Acta. 48:1135–1140
- Nesis, K. N. 1970. The biology of the giant squid of Peru and Chile, *Dosidicus gigas*. Oceanology. 10:108-118.
- Nesis, K. N. 1983. *Dosidicus gigas*. En: Pp. 215-231, Boyle P. R. (Ed.). Cephalopod Life Cycles Vol. I, Species Accounts. Academic Press, London.

- Nevárez-Martínez, M. O., A. Hernández-Herrera, E. Morales-Bojórquez, A. Balmori-Ramírez, M. A. Cisneros-Mata y R. Morales-Azpeitia. 2000. Biomass and distribution of the jumbo squid (*Dosidicus gigas* d'Orbigny, 1835) in the Gulf of California, Mexico. *Fish. Res.* 49:129-140.
- Paré, J.J.R., J.M.R. Bélanger y S.S. Stafford. 1994. Microwave-Assisted Process (MAPTM): a new tool for the analytical laboratory. *Trends Analyt. Chem.* 13: 176-184.
- Pauly, D., A. W. Trites, E. Capuli y V. Christensen. 1998. Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES J. Mar. Sci.* 55: 467–481.
- Peterson, B. J. y B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18:293-320.
- Porrás-Peters, H., D. Aurióles-Gamboa, V. H. Cruz-Escalona y P. Koch. En prensa. Trophic level and overlap of sea lions (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Mamm. Sci.* DOI: 10.1111/j.1748-7692.2008.00197.x
- Post, D. M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology.* 83:703–718.
- Post, D. M. 2003. Individual variation in the timing of ontogenetic niche shifts of largemouth bass. *Ecology* 84:1298–1310.
- Post, D. M., C. A. Layman, D. A. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi y C. G. Montaña. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia.* 152: 179-189.
- Rau, G., D. Ainley, J. Bengtson, J. Torres y T. Hopkins. 1992.  $\delta^{15}\text{N}$ /  $\delta^{14}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ /  $\delta^{12}\text{C}$  in wedell seabirds, seals and fish: implications for diet and trophic structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 84:1-8.
- Rau, G. H, M. D. Ohman y A. Pierrot-Bults. 2003. Linking nitrogen dynamics to climate variability off central California: a 51 year record based on  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in CalCOFI zooplankton. *Deep-sea Res. PT II.* 50:2431-2447.
- Rendell, L. y H. Whitehead. 2003. Vocal clans in sperm whales (*Physeter macrocephalus*). *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270:225–231.
- Renoe, B.W. 1994. Microwave assisted extraction. *Am. Lab.* 34-40.

- Rice, D. W. 1989. Sperm whales (*Physeter macrocephalus*) Linnaeus, 1758. En: Pp 177-233, Ridgway S.H. y R.J. Harrison (Eds.). Handbook of Marine Mammals. Academic Press, London.
- Roden, G. I. 1964. Oceanographic aspects of the Gulf of California. En: Pp 30-58, van Anderel T. H. y G. C. Shor (Eds.) Marine Geology of the Gulf of California. American Association Petrology Geological Memories 3.
- Ruiz-Castro, R. I. 2002. Relación trófica entre el cachalote (*Physeter macrocephalus*) y el calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en el Golfo de California mediante el análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno. CICIMAR-IPN. Tesis de Maestría. 48 pp.
- Ruiz-Cooley, R. I., D. Gendron, S. Aguíñiga, S. Mesnick y J. D. Carriquiry. 2004. Trophic relationships between sperm whales and jumbo squid using stable isotopes of C and N. Mar. Ecol. Prog. Ser. 277:275-283.
- Ruiz-Cooley, R. I., Unai Markaida, D. Gendron y S. Aguíñiga. 2006. Stable isotopes in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) beaks to estimate its trophic position: comparison between stomach contents and stable isotopes. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 86:437-445.
- Santamaría-del Ángel, E., S. Álvarez-Borrego y F. E. Müller-Karger. 1994. Gulf Of California biogeographic regions based on coastal zone color imagery. J. Geophys. Res. 99: 7411-7421.
- Sarakinos, H. C., M. L. Johnson, M. J. Vander Zanden. 2002. A synthesis of tissue-preservation effects on carbon and nitrogen stable isotope signatures. Can J Zool. 80:381-387.
- Smith, S. y H. Whitehead. 2000. The diet of Galápagos sperm whales *Physeter macrocephalus* as indicated by fecal sample analysis. Mar. Mamm. Sci. 16:315-325.
- Sotiropoulos, M. A., W. M. Tonn y L. I. Wassenaar. 2004. Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of fish tissues: potential consequences for food web studies. Ecol. Freshw. Fish. 13:155-160.

- Todd, S., P. Ostrom, P. Lien, y J. Abrajano. 1997. Use of biopsy samples of Humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) skin for stable isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$ ) determination. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 22: 71–76.
- Townsend, C. H. 1935. The distribution of certain whales as shown by logbook records of American whalships. *Sci. Contr. New York Zoology Society, Zoologica.* 19: 1-50.
- Walker, J. L. y S. A. Macko. 1999. Dietary studies of marine mammals using stable carbon and nitrogen isotopic ratio of teeth. *Mar. Mamm. Sci.* 15: 314-334.
- Weilgart, L. y H. Whitehead. 1997. Group-specific dialects and geographical variation in coda repertoire in South Pacific sperm whales. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 40:277-285.
- Weilgart, L.S. and H. Whitehead. 1988. Distinctive vocalizations from mature male sperm whales (*Physeter macrocephalus*). *Can. J. Zool.* 66:1931-1937.
- Whitehead, H. 2002. Sperm whale. En: Pp 1165-1172, Perrin W. F., B. Würsig y J. G. M. Thewissen (Eds). *Encyclopedia of marine mammals.* Academic Press. USA.
- Whitehead, H., 2003. *Sperm whales: social evolution in the ocean.* University of Chicago Press. Chicago.
- Whitehead, H. y L. Weilgart. 2000. The sperm whale: social females and roving males. En: Pp 154–172, Mann J., R.C. Connor, P. L. Tyack y H. Whitehead (Eds). *Cetacean societies: field studies of whales and dolphins.* University of Chicago Press. Chicago.
- Zavala-Hernández, V., D. Gendron y N. Jaquet. 2004. Diferenciación de grupos de cachalotes del Golfo de California por los tipos de marcas en las aletas caudales. Resúmenes XXIX Reunión Internacional para el Estudio de los Mamíferos Marinos. La Paz, B.C.S., México.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Muestras de piel descamada y biopsias de cachalotes hembra e inmaduros colectadas en el Golfo de California.

<b>Clave</b>	<b>Año</b>	<b>Temporada</b>	<b>Área</b>	<b>Grupo</b>	<b>Clan</b>
C92/Pm 1	2000	Fría	Central		
C94/Pm 3	2000	Fría	Central		
C96/Pm 5	2000	Fría	Central		
C97/Pm 6	2000	Fría	Central		
C98/Pm 7	2000	Fría	Central		
C102/Pm 11	2000	Fría	Central		
C103/Pm 12	2000	Fría	Central		
C105/Pm 14	2000	Fría	Central		
C109	2000	Fría	Central		
C113/Pm 22	2000	Fría	Central		
Pm 201	2002	Fría	Central		
Pm 202	2002	Fría	Central		
Pm 203	2002	Fría	Central		
Pm 204	2002	Fría	Central		
Pm 205	2002	Fría	Central		
Pm 254	2002	Fría	Sur		
Pm (1)	2002	Fría	Sur		
Pm 307	2002	Fría	SPM	1	
Pm 310	2002	Fría	SPM	1	
Pm 311	2002	Fría	SPM		
Pm 313	2002	Fría	Central	2	
Pm 314	2002	Fría	Central	2	
Pm 315	2002	Fría	Central	2	
Pm 316	2002	Fría	Central	2	
Pm 317	2002	Fría	Central	2	
Pm 318	2002	Fría	Central		
Pm 319	2002	Fría	Central	2	
Pm 321	2002	Fría	SPM	3	
Pm 322	2002	Fría	SPM	3	
Pm 323	2002	Fría	SPM		
Pm 324	2002	Fría	SPM	1	
Pm 326	2002	Fría	SPM	1	
Pm 327	2002	Fría	SPM	1	
Pm 331	2002	Fría	SPM	1	
Pm 332	2002	Fría	SPM		
Pm 333	2002	Fría	SPM		
Pm 334	2002	Fría	SPM		
Pm 401	2002	Fría	SPM	1	
Pm 408	2002	Fría	Central	4	

**Continuación Anexo I...**

<b>Clave</b>	<b>Año</b>	<b>Temporada</b>	<b>Área</b>	<b>Grupo</b>	<b>Clan</b>
Pm 413	2002	Fría	Central	5	
Pm 415	2002	Fría	Central	5	
Pm 417	2002	Fría	Central	5	
Pm 418	2002	Fría	Central	5	
Pm 419	2002	Fría	Central	5	
Pm 422	2002	Fría	Central	5	
Pm 423	2002	Fría	Central	5	
Pm 426	2002	Fría	Central	5	
Pm 427	2002	Fría	Central	5	
Pm 430	2002	Fría	Central	2	
Pm 433	2002	Fría	Central	2	
Pm 436	2002	Fría	Central	2	
Pm 500	2002	Cálida	Central	6	
Pm 501	2002	Cálida	Central	6	
Pm 502	2002	Cálida	Central	6	
Pm 506	2002	Cálida	SPM	7	
Pm 507	2002	Cálida	Central	8	
Pm 509	2002	Cálida	SPM	9	
Pm 514	2002	Cálida	SPM	10	
Pm 521	2002	Cálida	SPM	10	
Pm 522	2002	Cálida	SPM	10	
Pm 529	2002	Cálida	SPM	11	4+
Pm 540	2002	Cálida	SPM	12	
Pm 550	2002	Cálida	SPM	9	
Pm 206	2002	Fría	Central		
Pm 253	2002	Fría	Sur		
Pm 255	2002	Fría	Sur		
Pm 533	2002	Cálida	SPM	11	4+
Pm 535	2002	Cálida	SPM	11	
Pm 539	2002	Cálida	SPM	12	
Pm 541	2002	Cálida	SPM	12	
Pm 561	2003	Fría	Sur		
Pm 563	2003	Fría	Sur		
Pm 566	2003	Fría	Sur		
Pm 567	2003	Fría	Sur		
Pm 600	2003	Fría	Central	13	
Pm 601	2003	Fría	Central	13	
Pm 602	2003	Fría	Central	13	
Pm 604	2003	Fría	Central		
Pm 607	2003	Fría	SPM	14	Short
Pm 608	2003	Fría	SPM		
Pm 609	2003	Fría	SPM	15	

**Continuación Anexo I...**

<b>Clave</b>	<b>Año</b>	<b>Temporada</b>	<b>Área</b>	<b>Grupo</b>	<b>Clan</b>
Pm 613	2003	Fría	SPM		
Pm 614	2003	Fría	SPM	16	
Pm 615	2003	Fría	SPM		
Pm 616	2003	Fría	SPM		
Pm 617	2003	Fría	SPM	16	
Pm 618	2003	Fría	SPM	16	
Pm 619	2003	Fría	SPM		
Pm 623	2003	Fría	SPM	17	
Pm 626	2003	Fría	SPM		
Pm 627	2003	Fría	Central	11	4+
Pm 628	2003	Fría	Central	11	4+
Pm 629	2003	Fría	Central	18	
Pm 630	2003	Fría	Central	18	
Pm 631	2003	Fría	Central		
Pm 632	2003	Fría	Central	18	
Pm 625	2003	Fría	SPM	17	
Pm 634	2003	Fría	Central	18	
Pm 714	2004	Fría	Central		
Pm 713	2004	Fría	Central		
Pm 800	2004	Cálida	SPM		
Pm 801	2004	Cálida	SPM		
Pm 811	2005	Fría	Central		
Pm 812	2005	Fría	Central		
Pm 815	2005	Fría	Central		
Pm 816	2005	Fría	Central		
Pm 817	2005	Fría	Central		
Pm 818	2005	Fría	Central		
Pm 819	2005	Fría	Central		
Pm 820	2005	Fría	Central		
Pm 821	2005	Fría	Central		
Pm 822	2005	Fría	Central		
Pm 823	2005	Fría	Central		
Pm 824	2005	Fría	Central		
Pm 825	2005	Fría	Central		
Pm 826	2005	Fría	Central		
Pm 827	2005	Fría	Central		
Pm 829	2005	Fría	Central		
Pm 830	2005	Fría	Central		
Pm 831	2005	Fría	Central		
Pm 835	2005	Fría	Central		
Pm 834	2005	Fría	Central		
Pm 836	2005	Fría	Central		

**Continuación Anexo I...**

<b>Clave</b>	<b>Año</b>	<b>Temporada</b>	<b>Área</b>	<b>Grupo</b>	<b>Clan</b>
Pm 837	2005	Fría	Central		
Pm 839	2005	Fría	Central		
Pm 840	2005	Fría	Central		
Pm 841	2005	Fría	Sur		
Pm 842	2005	Fría	Sur		
Pm 843	2005	Fría	Sur		

**Anexo II.** Muestras de piel descamada y biopsias de machos adultos colectadas en el Golfo de California.

<b>Clave</b>	<b>Año</b>	<b>Temporada</b>	<b>Área</b>
C111	2000	Fría	Central
C116/Pm 25	2000	Fría	Central
C119/Pm 28	2000	Fría	Central
C121/Pm 30	2000	Fría	Central
C122/Pm 31	2000	Fría	Central
Pm 200c/123	2001	Fría	Central
Pm 201c/124	2001	Fría	Central
Pm 202c/125	2001	Fría	Central
Pm 1	2002	Fría	Central
Pm 250	2002	Fría	Sur
Pm 251	2002	Fría	Sur
Pm 428	2002	Fría	Central
Pm 536	2002	Cálida	SPM
Pm 560	2003	Fría	Sur
Pm 569	2003	Fría	Sur
Pm 611	2003	Fría	SPM
Pm 702	2004	Fría	Central
Pm 813	2005	Fría	Central
Pm 814	2005	Fría	Central
Pm 833	2005	Fría	Central
Pm 844	2005	Cálida	Central
Pm 845	2006	Fría	Central